

SÉRIE A, N° 3778.

N° D'ORDRE: 4629.

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Pierre FAVARD

Première thèse. — EVOLUTION DES ULTRASTRUCTURES CELLULAIRES AU
COURS DE LA SPERMATOGENÈSE DE L'ASCARIS (*ASCARIS MEGALOCEPHALA*,
SCHRANK).

Deuxième thèse. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 27 septembre 1961 devant la Commission d'examen :

MM. GRASSÉ	<i>Président.</i>
COUTEAUX	} <i>Examineurs.</i>
JOST	

PARIS

MASSON & C^{ie}, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, 120

1961

SÉRIE A, N° 3778.

N° D'ORDRE: 4629.

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Pierre FAVARD

Première thèse. — EVOLUTION DES ULTRASTRUCTURES CELLULAIRES AU
COURS DE LA SPERMATOGENÈSE DE L'ASCARIS (*ASCARIS MEGALOCephala*,
SCHRANK).

Deuxième thèse. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 27 septembre 1961 devant la Commission d'examen :

MM. GRASSÉ	<i>Président.</i>
COUTEAUX	} <i>Examineurs.</i>
JOST	



PARIS

MASSON & C^{ie}, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, 120

1961

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

Doyen M. ZAMANSKY.

PROFESSEURS

G. JULIA	T Analyse supérieure et Algèbre supérieure.	DESTOUCHES	T Théories physiques.
DE BROGLIE	T Théories physiques.	PRUVOST	T Géologie.
PRENANT	T Anat. et Histol. comp.	AMIEL	T Chimie des solides.
PÉRÈS	T Mécan. des fluides. et appl.	HOCART	T Minéralogie et cristallogr.
BOURCART	T Géogr. phys. et géol. dyn.	MATHIEU	T Recherches physiques.
PLANTEFOL	T Botanique.	COUTEAUX	T Biologie animale (P.C.B.).
GRASSÉ	T Evol. des êtres organisés.	MAY	T Zoologie (Orsay).
PRÉVOST	T Chimie organique.	CHOQUET	T Théor. des fonctions et topologie.
BOULIGAND	T Application de l'analyse à la Géométrie.	FELDMANN	T Biologie végétale (P.C.B.).
CHAUDRON	T Chimie appliquée.	GUINIER	T Physique des solides (Orsay).
WYART	T Minéralogie et cristallogr.	JOST	T Physiologie comparée.
TEISSIER	T Zoologie.	FORTET	T Calcul des probabilités et physique mathémat.
MANGENOT	T Biologie végétale (Orsay).	SCHWARTZ	T Calc. diff. et intégr.
AUGER	T Physique quant. et relat.	CHOUARD	T Physiologie végétale.
MONNIER	T Physiologie des fonctions.	MALAVARD	T Aviation (Tech. aéron.).
PIVETEAU	T Paléontologie.	BRELOT	T Calcul différentiel.
ROCARD	T Physique (E. N. S.).	NORMANT	T Synthèse organique génér.
CARTAN	T Mathématiques (E. N. S.).	BÉNARD	T Chimie (E. N. S. C. P.).
LAFFITTE	T Chimie générale.	BUVAT	T Botanique (E. N. S.).
FAVARD	T Géométrie supérieure.	DUGUÉ	T Statistiques mathémat.
COULOMB	T Physique du Globe.	SOULAIRAC	T Psychophysiologie.
M ^{lle} COUSIN	T Biologie.	ULRICH	T Physiol. végét. (E. N. S.).
CHRÉTIEN	T Chimie minérale.	MARÉCHAL	T Optique théor. et appl.
DRACH	T Zoologie.	KIRRMANN	T Théories chimiques.
KASTLER	T Physique (E. N. S.).	CHADEFAUD	T Botanique.
EPHRESSI	T Génétique.	M ^{lle} LE BRETON	T Physiologie.
RIVIÈRE	T Géologie (Orsay).	SALEM	T Mathématiques générales.
GAUTHERET	T Biologie (P. C. B.).	LELONG	T Mathématiques générales.
LUCAS	T Recherches physiques.	DEVILLERS	T Anat. et histol. comp.
THOMAS	T Biologie cellulaire.	EHRESMANN	T Topologie algébrique.
ARNULF	T Optique appliquée.	FRANÇON	T Physique (S. P. C. N.).
MORAND	T Enseign. de physique.	GLANGEAUD	T Géogr. phys. et géol. dyn.
SOLEILLET	T Physique (P. C. B.).	GODEMENT	T Mathématiques (M. P. C.).
FORTIER	T Mécan. expér. des fluides.	PISOT	T Calcul des probabilités.
DANJON	T Astronomie.	ROCH	T Géologie.
PETIT	T Biologie maritime.	SCHATZMANN	T Astrophysique.
QUENEY	T Météorologie et dyna- mique atmosphérique.	TERMIER	T Paléontol. stratigraph.
GALLIEN	T Embryologie.	ZAMANSKY	T Mathémat. générales.
EICHORN	T Biol. végét. (P. C. B.).	LENNUIER	T Physique (P. C. B.).
DE CUGNAC	T Biol. végét. (S. P. C. N.).	RIZET	T Génétique (Orsay).
M ^{lle} CAUCHOIS	T Chimie physique.	ROUTHIER	T Géologie appliquée.
THELLIER	T Physique du Globe.	Mme TONNELAT	T Relativité.
L'HÉRITIER	T Biologie générale (Orsay).	DIXMIER	T Mathématiques (M. P. C.).
GRIVET	T Radio-Électricité (Orsay).	SOUCHAY	T Chimie (P. C. B.).
PONCIN	T Mécanique générale.	AGRAIN	T Electrotech. génér.
DUBREIL	T Arithmétique et théorie des nombres.	BRUSSET	T Chimie minérale.
QUELET	T Chimie organique.	M. LÉVY	T Physique théorique des hautes énergies (Orsay).
CAGNIARD	T Géophysique appliquée.	Mme CHAIX	T Chimie biologique.
CHAMPETIER	T Chimie macromolécul.	Mme HUREL-PY	T Biol. végétale (P. C. B.).
CUVILLIER	T Micropaléontologie.	PIAUX	T Chimie (S. P. C. N.).
JUNG	T Pétrographie.	BRUN	T Mécan. expér. des fluides.
TRILLAT	T Microscopie et diffraction électronique.	LEDERER	T Chimie biologique.
WIEMANN	T Chimie org. et structur.	Mme DUBREIL	T Mathématiques (Agrég.).
JACQUINOT	T Spectroscopie (Orsay).	Mme LELONG	T Mathématiques (E. N. S.).
VASSY	T Physique de l'atmosph.	BELLAI	T Géologie (S. P. C. N.).
		COTTE	T Physique (M. P. C.).

Professeurs (suite).

DUBOIS	T Chimie (M. P. C.).	CHARLOT	T Chimie analytique.
LAMOTTE	T Zoologie (E. N. S.).	HAISSINSKY	T Radiochimie.
MICHEL	T Chimie minér. (Orsay).	LÉMÉE	T Physiologie (B. M. P. V.) (Orsay).
OLMER	T Energétique générale.	GUÉRIN	T Chimie (Orsay).
ROUAULT	T Physique.	M. CHATELET.....	T Chimie (P. C. B.).
GAUTHIER	T Mécanique appliquée.	JEAN	T Physique (Orsay).
BARCHEWITZ	T Chimie physique.	MATTLER	T Physique (Orsay).
BROSSEL	T Physique atomique.	MICHEL	T Phys. théorique (Orsay).
BUSER	Biologie animale (P.C.B.).	RUMPF	Chimie (P. C. B.).
CAMUS	Biologie végétale (P.C.B.).	BERGERARD	Biol. anim. (S. P. C. N.) (Orsay).
CASTAING	T Physique (Orsay).	BERTEIN	Electronique (Orsay).
CURIEN	T Minéral. et cristallogr.	BOUSSIÈRES	T Chimie des radio - élém. (Orsay).
MOYSE	T Physiol. végét. (Orsay).	M ^{me} COUTURE....	T Thermodynam. et mécan. physique.
PANNETIER	T Chimie (Orsay).	ELLENBERGER	Géologie appliquée.
POSSOMPÈS	T Biologie animale (P.C.B.).	FRANC	Biol. animale (P. C. B.).
PULLMANN	T Chimie théorique.	SCHNELL	Botanique tropic. (Orsay).
TEILLAC	T Physique nucl. et radio-activité (Orsay).	STOLKOWSKI	Biol. animale (P. C. B.).
TONNELAT	Biol. physico-chimique.	ACHER	Chimie biol. (Orsay).
VILLE	T Econométrie.	BAUDOIN	Biologie.
WILLEMART	Chimie (P. C. B.).	BEAUMONT	Biologie animale.
DODÉ	T Chimie (Orsay).	BLAMONT	Géophys. Ionosphère.
FREYMANN	T Physique (S. P. C. N.).	BOURREAU	Biol. végét. (S. P. C. N.) (Orsay).
GUINOCHET	T Biol. vég. (Orsay).	CURIE	Physique (M. G. P.).
ROLLET	T Chimie (P. C. B.).	DURAND-DELGA ...	Géologie.
M ^{lle} JOSIEN	T Chimie (P. C. B.).	FRÉON	Chimie organ. (Orsay).
CHEVALLEY	T Géométri. algèbre. et théor. des groupes.	HELLER	Physiologie végétale.
ARNOULT	T Electronique (Orsay).	TORTRAT	Calcul des probabilités.
CHAPELLE	T Physique (Orsay).	CAILLEUX	Géologie (S. P. C. N.).
DELANGE	T Mathématiques (Orsay).	MAGNAN	T Physique (P. C. B.).
DENY	T Mathémat. gén. (Orsay).	DAUDEL	Mécan. ondul. appl. à la chimie théor. et à la phys. nucl.
GERMAIN	T Mécan. théor. des fluides.	M ^{lle} FOURCROY...	Biol. végét. (S. P. C. N.).
LUCAS	T Géologie.	BARRAUD	Physiologie cellulaire.
ALLARD	T Chimie physique.	NOÏROT	Evol. des êtres organisés.
BERTHELOT	T Phys. fond. des Hautes Energies (Orsay).	M ^{me} FOURES-	Mécan. analyt. et mécan. céleste.
BRICARD	T Météorologie.	BRUHAT	T Physiologie générale.
M ^{me} ALBE-FESSARD	Psychophysologie.	LWOFF	T Microbiologie.
FRIEDEL	T Phys. des solides (Orsay).	SIESTRUNCK	T Mécan. phys. et expér.
M. JULIA	Chimie organ. structur.	LACOMBE	T Métallurgie (Orsay).
LENDER	Biol. animale (S. P. C. N.) (Orsay).	BROCHARD	T Physique P. C. B. (Orsay).
MAGAT	Physico-chim. des rayonnements.	CABANNES	T Mécanique générale.
M ^{lle} QUINTIN	T Electrochimie.	LESIEUR	T Math. M. P. C. (Orsay).
MONOD	T Biochimie cellulaire.	MAZET	T Mécanique gén. (Orsay).
BENOIT	T Physiol. animale (Orsay).		
DE POSSEL	T Analyse numérique.		

Secrétaire général R. POULLAIN.

ÉVOLUTION DES ULTRASTRUCTURES CELLULAIRES AU COURS DE LA SPERMATOGENÈSE DE L'ASCARIS

(*ASCARIS MEGALOCEPHALA*, SCHRANK
= *PARASCARIS EQUORUM*, GOERZE)

Par Pierre FAVARD

SOMMAIRE

<i>I. — Introduction et historique</i>	55
<i>II. — Matériel et technique</i>	57
<i>III. — Spermatogonies</i>	59
<i>IV. — Première division de maturation</i>	60
A. — PROPHASE.....	60
I. — <i>Phénomènes cytoplasmiques</i>	60
1° <i>Sécrétion de l'ascaridine</i>	60
— <i>Disparition des globules lipidiques</i>	61
— <i>Formation des granules d'ascaridine</i>	63
— <i>Discussion</i>	67
2° <i>Formation des grains à bâtonnet</i>	72
— <i>Multiplication des granules d'ascaridine</i>	72
— <i>Association des grains avec l'appareil de Golgi</i>	73
— <i>Croissance des grains à bâtonnet</i>	75
— <i>Structure du bâtonnet</i>	76
— <i>Discussion</i>	77
II. — <i>Phénomènes nucléaires</i>	80
1° <i>Evolution des chromosomes</i>	80
2° <i>Evolution du nucléole</i>	81
— <i>Croissance du nucléole</i>	81
— <i>Rapports du nucléole avec les chromosomes</i>	83
— <i>Sécrétion nucléolaire</i>	84

III. — <i>Achèvement de la prophase</i>	87
1° Formation des asters.....	87
2° Rupture de la membrane nucléaire.....	89
3° Evolution du nucléoplasme.....	90
4° Discussion	92
B. — MÉTAPHASE.....	96
I. — <i>Appareil mitotique</i>	96
1° Centrosomes et asters.....	96
2° Fuseau achromatique.....	97
II. — <i>Chromosomes</i>	98
C. — ANAPHASE ET TÉLOPHASE.....	101
I. — <i>Appareil mitotique</i>	101
1° Fibrilles interzonales.....	101
2° Fuseau achromatique.....	104
II. — <i>Cytodiérèse</i>	105
V. — <i>Seconde division de maturation</i>	108
VI. — <i>Spermiogenèse</i>	111
A. — PHÉNOMÈNES CYTOPLASMIQUES.....	111
I. — <i>Evolution de l'ergastoplasme</i>	111
1° Formation du disque cytophoral.....	111
2° Elimination du cytophore.....	113
3° Phagocytose des cytophores.....	116
II. — <i>Formation du cône réfringent</i>	117
III. — <i>Pseudopodes de la spermatide</i>	118
B. — PHÉNOMÈNES NUCLÉAIRES.....	119
C. — SPERMATOZOÏDE.....	120
I. — <i>Ultrastructure du spermatozoïde</i>	120
II. — <i>Spermatolyse intra-utérine</i>	122
VII. — <i>Fécondation</i>	124
VIII. — <i>Conclusion</i>	126
<i>Bibliographie</i>	127
<i>Légendes des planches</i>	140

I. — INTRODUCTION ET HISTORIQUE

Il est plus aisé de dire des choses nouvelles que de concilier celles qui ont été dites.

VAUVENARGUES.

On sait depuis longtemps que le testicule de l'*Ascaris* du Cheval est particulièrement favorable à l'étude de la spermatogenèse, puisque celle-ci se poursuit linéairement le long du tube testiculaire. Cette particularité anatomique exceptionnelle, qui se retrouve également chez la femelle, permet de suivre pas à pas la différenciation cellulaire pendant le déroulement de la gamétogenèse. A cet avantage s'ajoute, par surcroît, le petit nombre de chromosomes que possède ce Nématode. Il n'est donc pas étonnant que de nombreuses découvertes cytologiques fondamentales aient été faites ou confirmées, grâce à ce matériel qui réunit des conditions aussi avantageuses. C'est pourquoi le rôle de l'*Ascaris* dans le développement de nos connaissances biologiques peut être considéré comme aussi important que celui de la *Drosophile*.

Bien avant le mémoire fondamental de VAN BENEDEN et JULIN (1884), de nombreux travaux avaient été publiés sur la formation des spermatozoïdes chez les Nématodes et, en particulier, chez l'*Ascaris megalocephala*. On savait, depuis BAGGE (1841), que les spermatozoïdes de cet Embranchement sont atypiques; chez des parasites de la Grenouille, REICHERT (1847) avait déjà remarqué qu'une cellule-mère donne naissance à quatre spermatozoïdes, et qu'au moment des divisions cellulaires le cytoplasme présente une structure radiaire.

La spermatogenèse de l'*Ascaris* du Cheval fut d'abord examinée en même temps que celle d'autres Nématodes (*Ascaris mystax*, *Ascaris suilla*, etc.), par MEISSNER (1855), MUNK (1858) et CLAPARÈDE (1859), auxquels VAN BENEDEN et JULIN ont rendu un hommage d'autant plus vigoureux que les travaux qui suivirent étaient loin de posséder la valeur des précédents (NUSSBAUM, 1883; SCHNEIDER, 1883; HALLEZ, 1883, 1884). Dès cette époque, l'étude de la spermatogenèse de l'*Ascaris* est souvent associée à celle de l'ovogenèse, de la fécondation et du développement de l'œuf; le travail de VAN BENEDEN et JULIN est lui-même le prolongement naturel des observations antérieures de VAN BENEDEN (1883 *a* et *b*) sur la maturation et la fécondation de l'œuf.

De 1884 à 1914, âge d'or de la cytologie, on assiste à la parution d'un ensemble de mémoires sur l'*Ascaris* signés des plus grands

maîtres de cette période, tels CARNOY, BOVERI, HERTWIG, MEVES ou RETZIUS. Les travaux de leurs élèves ou de leurs collègues sont de même qualité, et parmi ceux qui se sont plus particulièrement attachés à l'étude de la spermatogenèse, nous citerons BRAUER, FÜRST, SCHEBEN et TRETJAKOFF. Les lithographies publiées sont d'une fascinante beauté, la précision des observations force l'admiration, la moisson est d'une richesse incomparable. Il suffit de parcourir les traités de cytologie pour en être persuadé : mitose, méiose, diminution chromatique, fécondation sont autant de phénomènes fondamentaux que les études de l'*Ascaris* ont permis de découvrir ou de confirmer.

En 1913, FAURÉ-FREMIET publie le dernier grand mémoire qui se rattache à cette période de la cytologie descriptive; par son aspect cytochimique et cytophysiologique, c'est déjà un travail moderne, et il faudra attendre longtemps avant que les méthodes de recherche et la façon de penser de ce précurseur se généralisent. Jusqu'aux travaux histochimiques de PASTEELS et de PANIJEL, en 1948, l'étude de la gamétogenèse de l'*Ascaris* n'apporte rien de fondamental. Certains points de la spermatogenèse font l'objet de controverses qui n'aboutissent pas, car elles portent sur des aspects que les techniques de la microscopie optique ne peuvent résoudre.

Déjà familiarisé avec l'étude de la spermatogenèse grâce à des travaux antérieurs, nous avons été tenté par celle de l'*Ascaris*. Elle est facile à suivre le long du testicule, elle est belle et elle est classique. Toutes ces raisons nous ont conduit à choisir ce matériel pour l'observer au microscope électronique. Nous avons ainsi pu résoudre certains problèmes propres à l'*Ascaris* et également discuter de problèmes cytologiques plus généraux.

Posséder un appareil et des techniques qui permettent d'étudier les phénomènes avec un pouvoir séparateur 100 fois supérieur à celui du microscope optique, n'autorise pas pour autant à ne pas tenir compte des observations prestigieuses des plus grands cytologistes. C'est pourquoi nous avons toujours eu le souci de nous référer aux travaux classiques. L'emploi d'un instrument nouveau ne vient jamais rompre la progression continue des connaissances scientifiques, bien au contraire, il permet de souder plus intimement l'ancien au moderne. Il est facile d'ignorer le passé, les mérites du présent en paraissent plus grands. L'attitude opposée est moins commode mais plus riche d'enseignements.

II. — MATÉRIEL ET TECHNIQUE

Les animaux qui ont servi à cette étude étaient tous de l'espèce *Ascaris megalcephala*, Schrank (= *Parascaris equorum*, Goerze). Ils ont été récoltés aux abattoirs hippophagiques de Vaugirard et appartenaient soit à la race *bivalens*, soit à la race *monovalens*.

Les testicules ont toujours été fixés très peu de temps après la récolte des animaux, sauf dans certains cas (voir plus loin, p. 99) où ils avaient préalablement séjourné 24 heures dans du sérum physiologique à 37° C.

Divers types de fixateurs ont été utilisés : le tétr oxyde d'osmium à 1 % tamponné selon PALADE (1952); le permanganate de potassium à 0,6 % selon LUFT (1956); le formol à 10 % tamponné au véronal suivi ou non d'une post-fixation à l'osmium. Les testicules étaient prélevés en entier et plongés aussitôt dans une boîte de Pétri contenant le fixateur. Au début de la fixation, la gonade était déroulée grossièrement de manière à éviter qu'elle ne fasse un tortillon compact, difficile à pénétrer par le fixateur. Les fixations ont été faites pendant une heure à la température de la chambre ou à 0° C.

Après la fixation, le testicule est rincé 5 minutes dans l'eau distillée ou mieux dans le tampon; en utilisant le tampon comme milieu de rinçage, on évite des contractions de la paroi testiculaire qui provoquent l'expulsion d'une partie des cellules hors de la gonade.

Avant de commencer la déshydratation des pièces fixées, nous avons toujours repéré les niveaux qui nous intéressaient. La longueur des testicules étant comprise entre 1 m et 1,5 m et certains niveaux importants, comme celui où se fait la seconde division, ne dépassant pas 3 cm, il est indispensable de vérifier au microscope optique quel est le stade de la spermatogenèse que l'on inclut. Pour ce faire, nous prélevions de place en place un petit fragment de testicule fixé (2 mm de long) et, après l'avoir écrasé entre lame et lamelle, il était facile de connaître à quel stade de la différenciation en était le fragment prélevé et par là, à quel stade en étaient les portions voisines. Pour l'étude de certaines phases, nous avons été conduit à inclure systématiquement des fragments pris tous les 3 cm.

Après déshydratation par l'alcool éthylique, l'inclusion a été faite dans l'araldite selon la méthode de GLAUERT (GLAUERT et GLAUERT, 1958). Les coupes ont été effectuées à l'ultramicrotome de Porter-Blum, et dépliées aux vapeurs de benzène selon la technique de SATIR et PEACHEY (1958).

Le contraste des structures étant faible quand on emploie des résines epoxy, nous avons été amené à monter nos coupes sur du carbone présentant des fentes et à ne prendre des clichés qu'au niveau des fentes. L'expérience nous a montré qu'on peut même se passer de membrane support; en éclairant d'abord sous faible intensité, les coupes ne se déchirent pas sous l'action du faisceau d'électrons.

Pour augmenter encore le contraste, nous avons parfois coloré les coupes soit à l'acide phosphotungstique (en solution à 1 % dans l'alcool absolu), soit par l'acétate d'uranyle selon la technique de GIBBONS et GRIMSTONE (1960), soit par l'acétate de plomb.

La détection histochimique de l'ascaridine à l'échelle du microscope électronique a pu être faite en traitant les coupes par l'eau chaude (60° C) ou par des solutions alcalines (voir plus loin, p. 66 et p. 85).

Les mêmes techniques de préparation ont été utilisées pour l'étude des sommets d'utérus au niveau desquels se fait la fécondation.

Les préparations ont été observées sur des microscopes R. C. A. de type E. M. U. 3, avec des diaphragmes de 200 μ au condenseur et de 50 μ au niveau de l'objectif. Les clichés ont été pris sous une tension de 100 kV, à des grossissements directs variant entre 1 700 et 57 000.

Afin d'effectuer certains contrôles histochimiques, des fragments de testicule ont été prélevés le long de la gonade et alternativement fixés pour la microscopie électronique et la microscopie optique. Ces contrôles ont été faits sur des pièces fixées au Flemming, au Carnoy, au Zenker, au Helly ou au Bouin. Un certain nombre de réactions histochimiques a été pratiqué : réaction de Feulgen, test de BRACHET au vert de méthyle-pyronine, réaction au DDD de BARNETT et SELIGMAN, etc.

Les planches hors texte sont numérotées en chiffres arabes; quand la planche comporte plusieurs figures, celles-ci sont repérées par une lettre en minuscule.

III. — SPERMATOGENIES

Les spermatogonies sont des cellules de 9 à 10 μ de diamètre contenant un gros noyau et peu de cytoplasme. Dans ce cytoplasme peu abondant, on reconnaît des mitochondries filamenteuses, quelques petits dictyosomes, un réticulum endoplasmique assez développé et des globules lipidiques (pl. 1, fig. *a*). Les globules lipidiques, très vivement colorables par le Soudan III, mesurent 1 μ de diamètre et sont constitués d'un triglycéride (FAURÉ-FREMIET, 1913).

À la différence des ovogonies, les spermatogonies se détachent très tôt du rachis auquel elles étaient reliées après leur multiplication. Le nombre des inclusions lipidiques augmente peu à peu, mais nos micrographies ne nous ont pas permis de comprendre le mécanisme de formation de ces nouvelles inclusions.

Le noyau des spermatogonies présente une encoche très profonde, de 0,1 μ de diamètre, si bien qu'un long diverticule cytoplasmique s'enfonce au milieu de la masse nucléaire dont il reste toujours séparé par la membrane du noyau (pl. 1, fig. *a*).

Après fixation au permanganate, les membranes du réticulum sont très visibles. On remarque alors de nombreux tubules plus ou moins aplatis allant du bord du noyau au bord de la membrane cellulaire. Certains de ces tubules sont en continuité avec la membrane nucléaire, d'autres s'ouvrent dans l'espace extra-cellulaire (pl. 1, fig. *b*, *c*, *d*). Nous n'avons cependant pu observer des tubules mettant clairement en continuité l'espace extra-cellulaire et l'espace périnucléaire. Cette disposition du réticulum endoplasmique a déjà été signalée dans de nombreux types cellulaires (WATSON, 1955; EPSTEIN, 1957; WHALEY et coll., 1959; etc.; voir revue dans CARASSO et FAVARD, 1961). On peut penser que cette organisation du réticulum intervient dans la circulation des substances qui pénètrent dans les spermatogonies et sont métabolisées au niveau du noyau.

C'est à partir de ces cellules peu différenciées que vont commencer les phénomènes spermatogénétiques.

IV. — PREMIÈRE DIVISION DE MATURATION

A. — PROPHASE

1. — PHÉNOMÈNES CYTOPLASMIQUES

1° *Sécrétion de l'ascaridine.*

La phase d'accroissement des spermatocytes d'*Ascaris* est marquée par l'apparition de nombreux granules réfringents dans le cytoplasme de ces cellules. Depuis que VAN BENEDEN et JULIN (1884) ont signalé l'existence de ces granules, les cytologistes, qui ont étudié la spermatogénèse de l'*Ascaris*, ont tous essayé de comprendre leur mode de formation et leur origine. FAURÉ-FREMIET (1913 *a* et *b*) précisa de façon remarquable la nature chimique de ces granules, en démontrant qu'ils étaient constitués d'une protéine qu'il put même extraire et purifier; il la nomma *ascaridine*. Malgré ce progrès, l'origine des granules d'ascaridine est restée très discutée.

En effet, le microscope optique se prête mal à l'étude d'un tel phénomène, car lors de leur apparition, les granules ont un diamètre qui est à la limite du pouvoir séparateur de cet appareil. C'est pourquoi de nombreuses hypothèses ont été formulées, et il est amusant de remarquer que tous les organites cytoplasmiques et même nucléaires ont été successivement considérés comme à l'origine de ces granules protéiques.

TRETJAKOFF (1905), MAYER (1908) et ROMIEU (1911) pensaient qu'il s'agissait de condensations dans le cytoplasme, mais ils n'excluaient cependant pas un rôle possible des mitochondries. Pour HIRSCHLER (1913), les granules ont une origine mitochondriale, mais cette interprétation est contestée par BOWEN (1925). Cet auteur, reprenant l'étude des images publiées par HIRSCHLER, conclut que les granules réfringents dérivent de l'appareil de Golgi, car ils semblent étroitement associés à des dictyosomes mis en évidence par l'imprégnation osmique. Le travail de STURDIVANT (1934) insiste également sur l'origine golgienne très probable de ces granules. Reprenant l'étude de ce problème sous la direction de FAURÉ-FREMIET, FILHOL (1937)

reconnaît ne voir aucune intervention d'organites cytoplasmiques comme les mitochondries ou les vacuoles au cours de l'élaboration de l'ascaridine. Plus récemment, NATH et SINGH (1956) ne doutent pas que ce soit l'appareil de Golgi qui se transforme en granules protéiques. Quant à une origine nucléaire possible de ces granules, cette hypothèse fut soutenue par SCHEBEN (1905) et WIDMAN (1913).

L'apparition de granules protéiques au cours d'une spermatogenèse est un phénomène très exceptionnel; c'est même une curiosité qu'on ne rencontre que chez les Nématodes. Tant de travail et de controverses pour résoudre un problème aussi particulier peut apparaître bien décadent. Pourtant, l'élaboration intracellulaire d'une protéine se concentrant en granules est l'expression même d'une sécrétion, phénomène cytologique très général dont l'*Ascaris* mâle nous offre un très bel exemple.

Nous avons pu suivre au microscope électronique les phases successives de cette sécrétion. Par un curieux retour des choses, c'est le seul organite auquel la microscopie classique n'avait point fait appel : l'ergastoplasme, qui apparaît maintenant à l'origine des grains d'ascaridine (FAVARD, 1958).

Avant que ne se forment les grains d'ascaridine, les spermatocytes de premier ordre renferment des inclusions brillantes qui sont des globules lipidiques. Ces globules lipidiques disparaissent en même temps que naissent les granules protéiques. L'observation des ultrastructures cytoplasmiques montre que ces deux processus sont intimement liés. Nous les étudierons successivement.

Disparition des globules lipidiques (fig. 1).

Dans les coupes de spermatogonies ou de spermatocytes jeunes, on reconnaît les globules lipidiques à leur très fort contraste après fixation osmique et à leur limite nette. Ils ont $1,2 \mu$ de diamètre environ, mais leur forme n'est pas régulière. Ils montrent des invaginations plus ou moins prononcées leur donnant en coupe un contour souvent polygonal (pl. 2, fig. a et b).

Dans les spermatocytes au début du stade pachytène, la structure des globules lipidiques change. Ceux-ci prennent une forme sphérique plus régulière, mais leurs bords deviennent diffus et peu denses aux électrons, si bien qu'ils apparaissent entourés d'une auréole claire de $0,1 \mu$ d'épaisseur (pl. 2, fig. c et pl. 3).

Peu après, des grains RNP s'amassent à la périphérie de l'auréole claire des globules lipidiques. En même temps se forme une double lame ergastoplasmique qui vient ceinturer le globule à sa périphérie. Entre le bord du globule et la double lame ergastoplasmique, on peut alors observer de nombreux grains RNP de $100 \text{ \AA}$ de diamètre. Certains de ces grains sont collés contre les membranes ergastoplas-

miques, de part et d'autre de la cavité limitée par ces membranes, mais la plupart restent libres dans le hyaloplasme (pl. 4, fig. a).

Puis, à l'extérieur de cette première couche d'ergastoplasme, se forme une seconde couche. Entre ces deux couches, le hyaloplasme est riche en grains RNP tandis que l'intérieur des cavités ergastoplasmiques reste peu dense aux électrons. Le nombre des couches ergastoplasmiques augmente progressivement par adjonction de nouvelles couches de plus en plus externes. La densité des grains RNP entre les couches successives diminue à mesure que l'on est plus éloigné du globule lipidique central.

Ainsi s'édifie peu à peu un système ergastoplasmique constitué de couches concentriques successives, emboîtées les unes dans les autres (pl. 4, fig. b). Ces couches sont parfaitement séparées et les espaces qu'elles isolent ne présentent en général aucune communication entre eux. Elles sont distantes de $0,1\ \mu$, les couches les plus périphériques étant d'ailleurs plus espacées l'une de l'autre et leur contour moins parfaitement circulaire. Jusqu'à la formation de la cinquième couche, l'aspect du globule lipidique est inchangé : son diamètre reste le même et il est toujours entouré de son auréole claire périphérique (pl. 3).

Le nombre des couches ergastoplasmiques continue d'augmenter, mais à partir de ce stade, le globule lipidique commence à diminuer de taille. Son auréole claire garde la même épaisseur, mais sa partie dense centrale devient de plus en plus petite. En même temps, dans la zone hyaloplasmique située entre l'auréole claire du globule lipidique et la première couche ergastoplasmique apparue, se forment deux ou trois couches nouvelles d'ergastoplasme. Quand le globule lipidique n'a plus que $0,4$ à $0,3\ \mu$ de diamètre, sa partie centrale a disparu et sa structure apparaît alors parfaitement claire (pl. 4, fig. c).

Au terme de l'évolution, le globule lipidique a complètement disparu et, à sa place, s'est constitué un système d'une douzaine de couches concentriques d'ergastoplasme. La couche la plus interne délimite une sphère de $0,5\ \mu$ de diamètre, et la région centrale située exactement à la place de l'ancien globule lipidique est maintenant remplacée par un hyaloplasme riche en grains RNP (voir pl. 3 et pl. 4, fig. c). Le diamètre de la couche la plus externe est de $4\ \mu$ environ. Il faut remarquer que lorsque deux systèmes ergastoplasmiques se développent autour de deux globules lipidiques voisins, les couches les plus périphériques sont souvent communes aux deux ensembles.

Ainsi, la disparition des globules lipidiques est accompagnée de la formation de véritables « Nebenkerne » ergastoplasmiques se développant autour de chacun d'eux. Ce phénomène n'a pas lieu en même temps pour tous les globules lipidiques d'un même spermatocyte. Certains globules peuvent être dépourvus d'enveloppes ergastoplasmiques, alors que d'autres ont déjà complètement disparu et sont remplacés par un système comprenant une dizaine de couches (pl. 3).

Cependant, en observant des spermatocytes de plus en plus âgés, on constate qu'en moyenne, le nombre des globules lipidiques diminue en même temps que celui des « Nebenkerne » ergastoplasmiques augmente.

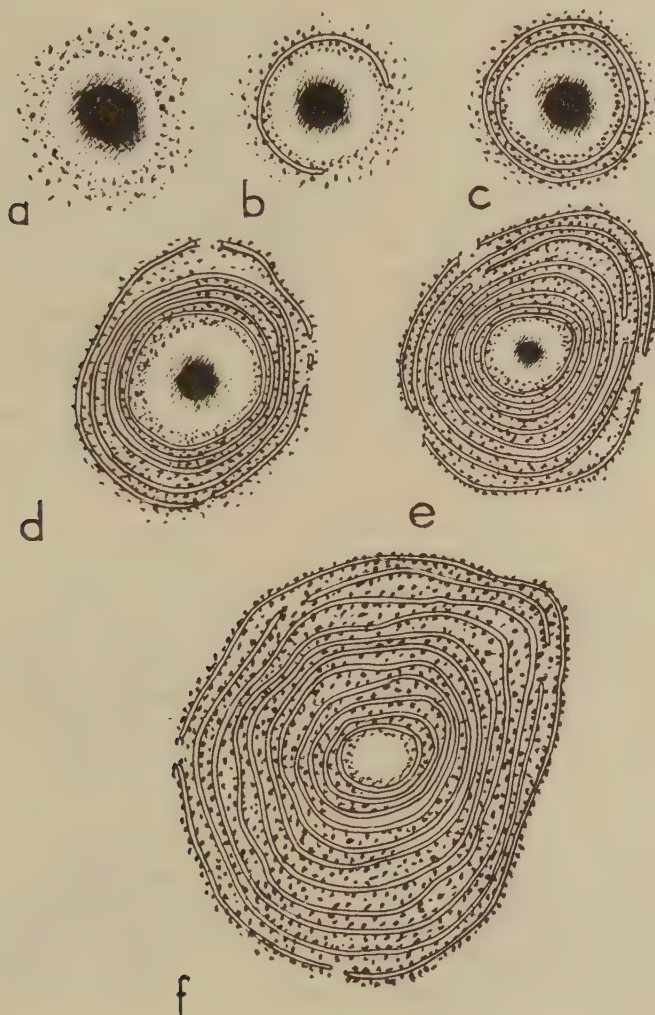


FIG. 1. — Formation des « Nebenkerne » ergastoplasmiques autour des globules lipidiques. A mesure que les couches d'ergastoplasme augmentent en nombre, le globule lipidique est peu à peu « digéré ».

Formation des granules d'ascaridine (fig. 2).

Lorsque l'édifice ergastoplasmique atteint son maximum de développement, on voit apparaître dans l'îlot central de hyaloplasme un petit granule dense aux électrons de $0,1 \mu$ de diamètre (pl. 5, fig. a). On ne peut le confondre avec un reste de globule lipidique. En effet,

cette nouvelle inclusion montre des bords nets et ne présente pas d'auréole claire à sa périphérie. Au voisinage de ce granule, le hyaloplasme est toujours très riche en grains RNP.

Ce granule nouvellement formé augmente de taille, tandis que les couches d'ergastoplasme les plus périphériques s'ouvrent et se fragmentent; elles donnent ainsi naissance à des vésicules aplaties qui disparaissent peu à peu. Un phénomène analogue se produit pour les deux ou trois couches d'ergastoplasme les plus internes.

Le nombre des couches diminue donc. Quand le granule atteint $0,5 \mu$ de diamètre, il n'en reste que six ou sept; on n'en observe plus que trois ou quatre quand ce diamètre est de l'ordre du μ (pl. 5, fig. *b* et *c*). Les deux ou trois dernières couches s'ouvrent simultanément avant de disparaître (pl. 6, fig. *b* et *c*). A ce stade, le granule possède sa taille maximum; il apparaît en coupe de forme légèrement elliptique, son grand axe mesurant un μ environ. Cependant, sur une même coupe, les granules présentent toujours un aplatissement dans la même direction. Cette direction correspond en fait à celle de l'arête du couteau. La forme elliptique des granules est donc due à un tassement de la coupe que les vapeurs de benzène utilisées pour la déplisser ne suffisent pas à effacer complètement.

La formation des granules n'est pas synchrone dans un même spermatocyte; mais en observant des cellules de plus en plus âgées, on constate qu'en moyenne le nombre des granules augmente en même temps que diminue celui des globules lipidiques et des « Nebenkerne ». Remarquons qu'il n'est pas rare de voir se former deux granules au centre d'un même ensemble ergastoplasmique.

Ainsi, les « Nebenkerne » qui se sont constitués autour des globules lipidiques disparaissent en suivant un processus inverse de celui de leur formation (fig. 1). A leur place sont apparus des granules denses aux électrons dont il convient de préciser maintenant la nature chimique.

Pour connaître la nature chimique des granules, nous avons prélevé la zone du testicule où l'on repère au microscope optique l'apparition de grains réfringents. Un certain nombre de fragments de cette zone ont été fixés et inclus pour une étude au microscope électronique, les autres servant à un travail histochimique en microscopie optique.

Au microscope électronique, les fragments montrent les diverses étapes du phénomène que nous avons décrit précédemment. Au microscope optique, nous avons pu vérifier que les granules réfringents sont colorables par les réactifs des protéines et, en particulier, par le bleu de bromophénol mercurique. Cette dernière coloration peut être faite sur des frottis après action du Soudan III; les granules se détachent alors en bleu à côté des quelques globules lipidiques colorés en rouge et leur taille est comparable à celle des granules observés au microscope électronique. D'autre part, les granules réfringents sont très fortement Gram positifs. Sur coupes épaisses de matériel fixé et inclus dans l'araldite, on reconnaît très bien les granules réfringents, et il est

possible de les colorer par la technique de Gram sans enlever la matière d'inclusion. La substance qui compose les granules présente donc les caractères histochimiques d'une protéine, et sa coloration Gram posi-



FIG. 2. — Sécrétion des granules d'ascaridine au centre des « Nebenkerne » ergastoplasmiques. Le nombre des couches d'ergastoplasme diminue, tandis que grossit le granule d'ascaridine.

tive laisse à penser qu'ils sont constitués par de l'ascaridine telle que l'a définie FAURÉ-FREMIET (1913 *b*).

L'ascaridine présente en outre la propriété aberrante pour une protéine, de se dissoudre dans l'eau chaude et de précipiter lors du refroidissement (FAURÉ-FREMIET, 1911, 1913 *a* et *b*). Le point de solu-

bilité dans l'eau distillée se situe entre 50 et 51° C; il varie quand on emploie diverses solutions salines (FAURÉ-FREMIET et FILHOL, 1937). Cette protéine est de plus soluble à froid dans des solutions diluées de soude, de potasse ou d'ammoniaque. Les diagrammes aux rayons X, obtenus par CHAMPETIER et FAURÉ-FREMIET (1937 *a* et *b*), montrent que, lors de la dissolution, il y a passage d'un état semi-cristallin à un état amorphe. Ces propriétés se vérifient aussi bien sur la protéine *in vitro* que sur les granules réfringents *in situ*.

Ces caractères très particuliers de solubilité nous ont permis de montrer que les granules, dont nous avons décrit la formation, sont, sans aucun doute possible, constitués d'ascaridine. En effet, en traitant durant cinq minutes des coupes ultra-minces par de l'eau distillée à 80° C, ou par des solutions diluées de soude, de potasse ou d'ammoniaque, on constate au microscope électronique que la substance qui constituait les granules a complètement disparu. Les granules apparaissent alors transparents sous le faisceau d'électrons, tandis que le contraste des autres éléments cellulaires n'a pas changé (pl. 17, fig. *a* et *b*). Nous démontrons donc par ces méthodes, et ceci à l'échelle du microscope électronique, que les granules formés dans les « Nebenkerne » ont les mêmes caractères de solubilité que l'ascaridine. Ces caractères sont trop exceptionnels pour ne pas les considérer comme spécifiques de l'ascaridine.

L'absence de tout contraste aux électrons après dissolution montre que les granules sont très probablement formés d'ascaridine pure. Nous avons aussi observé que l'acide phosphotungstique en solution dans l'alcool absolu dissout sur coupes les granules d'ascaridine; nous reviendrons plus loin sur ce phénomène (voir p. 76).

Il peut paraître étrange que l'ascaridine n'ait pas été dénaturée par la fixation, la déshydratation et l'inclusion dans la résine epoxy. FAURÉ-FREMIET avait déjà montré que l'alcool ne change pas les caractères de solubilité de cette protéine, puisqu'avant de procéder à son extraction, il éliminait les graisses du testicule par l'alcool à 90° et qu'il terminait sa purification par une déshydratation alcoolique et un épuisement par l'éther (FAURÉ-FREMIET et FILHOL, 1937). PASTEELS (1948) a également signalé qu'après fixation au Carnoy et inclusion à la paraffine, les granules d'ascaridine des spermatocytes sont encore solubles dans l'eau chaude. Ni les fixateurs que nous avons utilisés (tétroxyde d'osmium, formol, permanganate), ni le milieu d'inclusion ne modifient les caractères de solubilité de l'ascaridine. On peut donc dire que cette protéine se prête exceptionnellement bien à une étude au microscope électronique, puisque les techniques de préparation ne semblent pas la dénaturer. Par contre, il faut remarquer que la dissolution n'est plus possible après que les coupes aient subi l'action du faisceau d'électrons dans le microscope.

Après dissolution de l'ascaridine, on remarque, autour des granules dont la croissance est achevée, une membrane dense aux électrons. Cette membrane se repère très difficilement avant la dissolution, car

son contraste est à peu près le même que celui de la protéine et elle est toujours étroitement collée à celle-ci. S'agit-il d'une membrane de même nature que celle des vésicules de l'ergastoplasme ? En fait, elle est plus fine (50 Å au lieu de 75 Å) et surtout elle est beaucoup moins colorable par l'acide phosphotungstique en solution alcoolique. Cet aspect rappelle celui de l'interface hyaloplasme-globule lipidique, comme on peut l'observer dans certaines cellules (NAPOLITANO et FAWCETT, 1958). Selon nous, cette structure apparemment membranaire peut s'interpréter comme une condensation hyaloplasmique au niveau de l'interface ascaridine-hyaloplasme. A ce stade, nous pouvons considérer que les granules d'ascaridine sont libres dans la matrice cytoplasmique et qu'ils ne possèdent pas de véritable membrane limitante. Nous verrons qu'il en est différemment dans le spermatozoïde (voir plus loin, p. 120).

En conclusion, nous pouvons donc affirmer que les granules dont nous avons suivi les diverses phases de la formation sont des granules d'ascaridine. L'apparition de ces granules dans le cytoplasme des spermatocytes traduit une activité sécrétoire intense. Cette sécrétion s'accompagne de changements morphologiques à l'échelle des ultrastructures que nous allons maintenant discuter.

Discussion.

Comme nous l'avons observé, la sécrétion débute par l'édification de systèmes ergastoplasmiques dont la structure en couches concentriques est comparable à celle des « Nebenkerne » décrits par de nombreux auteurs. De tels aspects ont en effet été signalés dans les neurones (PALAY et PALADE, 1955), les cellules hépatiques (ROUILLER, 1957), la parathyroïde (TRIER, 1958), les glandes salivaires de Chironome (HAGUENAU, 1958), les spermatides de Cobaye (FAWCETT et ITO, 1958), le pancréas de la Chauve-souris *Myotis* (FAWCETT et ITO, 1960) ou le muscle en régénération (HAY, 1960), etc. On a également décrit de telles structures ergastoplasmiques dans les tissus cancéreux : hépatome (FAWCETT et WILSON, 1955; FAWCETT et ITO, 1958) ou tumeurs hypophysaires (HAGUENAU et LACOUR, 1955), etc.

Si les quelques exemples que nous venons de donner montrent que de tels aspects morphologiques n'ont rien d'exceptionnel, les descriptions qui en ont été faites sont en général statiques, car les auteurs n'ont pu observer l'évolution de ces structures. Chez l'*Ascaris*, au contraire, l'anatomie du testicule permet de suivre pas à pas les étapes successives de la formation des « Nebenkerne », puis celles de leur disparition.

L'ergastoplasme s'organise toujours autour des globules lipidiques. Ce sont tout d'abord des grains RNP qui s'accumulent dans le hyaloplasme touchant l'auréole claire du globule. Puis apparaît une vésicule aplatie qui se referme sur elle-même. Les couches successives de mem-

branes se forment à partir de quelques vésicules qui s'étendent autour du globule et se fusionnent. Les deux ou trois premières couches s'organisent au milieu d'une zone riche en grains RNP; par contre, la zone hyaloplasmique où se forment les couches plus externes ne montre pas une densité de grains plus élevée que les autres régions du cytoplasme du spermatocyte.

Il faut souligner que l'édification du « Nebenkern » est très progressive et que les différentes couches se mettent en place l'une après l'autre dans un ordre bien défini : chaque couche nouvelle se forme à l'extérieur de la précédente, à l'exception des deux ou trois couches qui apparaissent à l'intérieur de la première formée, quand le globule lipidique diminue de taille.

La disparition du « Nebenkern », lors de la sécrétion du granule d'ascaridine, n'est que le déroulement à l'envers des phénomènes précédents. Chaque couche se fragmente en donnant des vésicules qui « s'évanouissent » dans le hyaloplasme; quant aux grains RNP, ils semblent se disperser dans tout le cytoplasme.

L'édification de structures ergastoplasmiques a déjà été suivie par quelques auteurs, au cours de la différenciation de certaines cellules somatiques ou germinales. MUNGER (1958) et FERREIRA (1959) ont décrit le phénomène dans les cellules pancréatiques, au cours de leur développement embryonnaire, HAY (1958, 1960) l'a observé dans des blastèmes de régénération chez l'Amblystome, SLAUTTERBACK et FAWCETT (1959) dans les cnidoblastes de l'Hydre, FAWCETT et ITO (1958) dans les spermatocytes de Cobaye, ainsi que FAWCETT (1959) dans le même matériel. Tous ces chercheurs ont signalé la présence de grains RNP avant que n'apparaissent les membranes; celles-ci limitent d'abord de petites vésicules qui, en se fusionnant, donnent naissance aux cavités aplaties de l'ergastoplasme. Nous retrouvons chez l'*Ascaris* des phénomènes semblables, mais ici, ils sont réversibles et polarisés par les globules lipidiques.

L'arrangement en couches concentriques des lames de l'ergastoplasme rappelle la structure bien connue des images myéliniques obtenues à partir de phospholipides hydratés (GEREN et SCHMITT, 1953; REVEL et coll., 1958; STOECKENIUS, 1959). Le taux d'hydratation du cytoplasme intervient-il dans la formation de tels arrangements, comme l'ont suggéré FAWCETT et ITO (1958) ? Rien ne nous permet d'infirmier ou de confirmer cette hypothèse.

Seul, STURDIVANT (1934) a signalé au microscope optique des structures en anneaux autour des jeunes granules d'ascaridine. Ces anneaux n'étaient mis en évidence que par les techniques d'imprégnation; comme ils apparaissaient très osmiophiles, cet auteur les interprétait comme des dictyosomes. En fait, on sait que les membranes peuvent parfois donner les mêmes réactions tinctoriales que l'appareil de Golgi; ITO (1960) en a donné une belle démonstration dans les spermatocytes de *Drosophila*.

La formation de ces structures ergastoplasmiques pose évidemment

le problème de leur origine. Si nous comprenons que des vésicules, en s'aplatissant et en se fusionnant, puissent donner naissance aux diverses couches du « Nebenkern », il est difficile de savoir d'où proviennent les vésicules elles-mêmes. De nombreuses hypothèses ont été proposées, mais aucune n'est vraiment satisfaisante (voir la revue d'ensemble de CARASSO et FAVARD, 1961). Dans notre matériel, aucune micrographie ne suggère que les vésicules, qui se forment près du globule lipidique, puissent être le prolongement ou le réarrangement d'un système membranaire préexistant. En l'absence de coupes sériées, nous ne pouvons rejeter complètement cette hypothèse, mais il nous semble plus probable que les membranes des vésicules se forment *de novo* dans le hyaloplasme. Nous verrons que la même question se pose au cours de la spermiogenèse, lors de la formation du cytophore (voir p. 112).

Le développement des structures ergastoplasmiques coïncide avec deux étapes physiologiques importantes qui amènent un changement complet des inclusions du spermatocyte. La disparition des globules lipidiques témoigne d'un catabolisme actif, tandis que la sécrétion des granules d'ascaridine traduit morphologiquement une intense synthèse protéique.

Un parallélisme aussi étroit entre le développement de l'ergastoplasme et la disparition des inclusions lipidiques amène à se demander si l'ergastoplasme participe à cette phase du catabolisme.

Du point de vue biochimique, on connaît encore peu de choses sur le rôle de l'ergastoplasme dans le métabolisme des lipides. BUCHER et Mc GARAHAM (1956) ont montré que les microsomes participent à la synthèse du cholestérol mais, d'après eux, les particules RNP ne joueraient aucun rôle et ce seraient les membranes, ou un autre constituant non identifié, qui participeraient à la synthèse. D'autres auteurs pensent également que les microsomes interviennent dans la synthèse des lipides et, en particulier, dans celle des glycérides (KLEIN et BOOHER, 1956; STEIN et SHAPIRO, 1957).

Du point de vue morphologique, le catabolisme lipidique n'a été que peu suivi au niveau des ultrastructures. PALADE et SCHIDLOWSKY (1958) ont montré une association entre les mitochondries et les globules lipidiques dans le pancréas de Cobaye à jeun. Au cours de la réalimentation, les globules diminuent de taille, puis disparaissent en restant toujours collés contre les mitochondries (PALADE, 1959). D'autres associations de ce type ont été décrites, mais jusqu'ici on n'a jamais signalé de relation morphologique entre l'ergastoplasme et des globules lipidiques en voie de résorption. Par contre, dans les cellules à anabolisme lipidique élevé, de nombreux auteurs ont souligné l'importance des membranes agranulaires (PALADE, 1955; GROSS et coll., 1958; EMMELOT et BENEDETTI, 1960) ou des membranes à grains RNP (BARGMANN et KNOOP, 1959, dans la glande mammaire). Nos images suggèrent que la « digestion » des globules lipidiques commence sans doute avant que les membranes ergastoplasmiques ne

se mettent en place. En effet, l'auréole claire, que l'on observe aux tout premiers stades, semble indiquer une modification précoce de la zone corticale des globules. La fixation osmique n'empêche pas une dissolution des constituants de cette région au cours de la déshydratation par les alcools, alors que les globules lipidiques des spermatogonies ou des très jeunes spermatocytes sont parfaitement conservés et ne présentent pas cette auréole de dissolution. Quant à l'importance relative des grains RNP et des membranes dans le processus catabolique, nous ne pouvons la préciser.

Si le rôle de l'ergastoplasme dans le métabolisme des lipides est encore peu étudié, la participation de cet organite à la synthèse protéique est aujourd'hui bien établie, tant par des données biochimiques que morphologiques (mises au point récentes de BRACHET, 1958, 1959; LOTFIELD, 1957; CHANTRENNE, 1958; HAGUENAU, 1958; CRICK, 1958; SIEKEVITZ, 1959; CAMPBELL, 1960; HIRSCH, 1960; etc.). Parmi les plus beaux résultats, il faut citer ceux de PALADE et SIEKEVITZ, obtenus sur le pancréas, organe sécréteur de granules protéiques : les grains de zymogène. Comme nous l'avons vu, les spermatocytes de l'*Ascaris* sécrètent une protéine : l'ascaridine.

Du point de vue biochimique, les travaux de FAURÉ-FREMIET (1913 a et b) et ceux de PANIJEL (1950, 1951) apportent de nombreux renseignements sur les propriétés chimiques et la composition du produit de sécrétion. L'ascaridine est une protéine curieuse, non seulement par ses caractères de solubilité (voir plus haut, p. 000), mais encore par sa composition en acides aminés. C'est une protéine acide, très riche en acides aminés dicarboxyliques (5 % d'acide glutamique, 20 % d'acide aspartique), dont le pourcentage en acides aminés aromatiques est important et celui en acides aminés basiques très faible. Elle contient très peu de phosphore, pas de soufre, et son spectre d'émission en UV montre les raies du magnésium et du calcium.

Du point de vue morphologique, nos observations montrent que l'ergastoplasme riche en graines RNP a un développement maximum au moment où commence la sécrétion protéique, qu'il diminue, puis que ses membranes disparaissent quand les granules d'ascaridine n'augmentent plus de taille. Histochimiquement, cela se traduit par une augmentation de la basophilie du cytoplasme dans les spermatocytes, basophilie qui s'atténue en fin de sécrétion comme l'ont déjà décrit PASTEELS (1948) et PANIJEL (1951).

Ce parallélisme étroit entre le développement de l'ergastoplasme à membranes granulaires et le déroulement du phénomène sécrétoire a été signalé dans certaines cellules. On peut citer les cellules caliciformes de l'épithélium intestinal (PALAY, 1958), les cnidoblastes de l'Hydre pendant la sécrétion du nématocyste (SLAUTTERBACK et FAWCETT, 1959) ou les cellules acineuses du pancréas au cours de leur différenciation (MUNGER, 1958; FERREIRA, 1959).

Selon ces auteurs, l'ergastoplasme à prédominance granulaire est

sans doute impliqué dans des synthèses protéiques destinées à augmenter la masse du cytoplasme; l'apparition des membranes dans cet ergastoplasme granulaire semble liée à des synthèses protéiques en rapport avec un processus sécrétoire. Dans le cas des spermatoocytes d'*Ascaris*, nous pouvons adopter une telle interprétation; en effet, avant que ne débute la sécrétion d'ascaridine, l'ergastoplasme est surtout granulaire et, durant cette période, le volume cytoplasmique augmente fortement, puisque le diamètre des spermatoocytes passe de 15 μ à 30 μ . L'apparition des membranes marque le commencement des phénomènes sécrétoires.

Dans les cellules où apparaissent des granules protéiques, il faut remarquer qu'en général les produits de sécrétion se forment à l'intérieur de cavités ergastoplasmiques. L'exemple le plus connu est celui des grains de prozymogène du pancréas de Cobaye (PALADE, 1956; SIEKEVITZ et PALADE, 1958 *a* et *b*). Une telle situation des grains de sécrétion a été également signalée dans l'oviducte de Poule (HENDLER et coll., 1957), dans le noyau vitellin des ovocytes d'Araignée (ANDRÉ et ROUILLER, 1957), dans les trompes de Fallope (NILSSON, 1958), dans des cellules tumorales de la glande mammaire (HOLLMAN, 1959), dans la *pars intermedia* de l'hypophyse (GERSCHENFELD et DE ROBERTIS, 1960), dans les plasmocytes (THIÉRY, 1960), dans la prostate (BRANDES et GROTH, 1961), etc.

Or, l'ascaridine apparaît au milieu d'une zone de hyaloplasme riche en grains RNP et non à l'intérieur d'une cavité ergastoplasmique. Cette zone, où vient se concentrer le produit de sécrétion, est cependant séparée du reste de la cellule par les couches concentriques d'ergastoplasme qui se sont formées au cours de la « digestion » du globule lipidique. Ces couches délimitent un territoire constitué de compartiments emboîtés et séparés les uns des autres par les membranes ergastoplasmiques. Seul, le compartiment central devient le lieu de sécrétion, et on peut penser que le cytoplasme qui s'y trouve enfermé acquiert de ce fait une composition chimique et enzymatique particulière. Parfois cependant, dans un compartiment plus externe situé entre deux couches périphériques successives, apparaît un granule d'ascaridine. Mais, dans ce dernier cas, le granule grossit peu et son diamètre ne dépasse pas 0,3 μ . Les couches périphériques disparaissant les premières, on peut supposer qu'au moment où le compartiment est de nouveau en communication avec le reste du cytoplasme, le phénomène sécrétoire s'arrête.

Ainsi, chez l'*Ascaris*, nous voyons s'isoler des compartiments où s'accumule le produit de sécrétion. Ce processus très particulier rappelle celui que nous avons décrit chez la Planorbe au cours de la formation de certains globules vitellins (globules vitellins d'origine complexe, CARASSO et FAVARD, 1958 *a* et *b*; FAVARD et CARASSO, 1958).

Généralement, les produits de sécrétion se concentrent à l'intérieur de compartiments cytoplasmiques limités par des membranes qui existent déjà dans le cytoplasme : cavités de l'ergastoplasme, dont

nous avons rappelé plus haut quelques cas; saccules golgiens comme lors de la sécrétion de l'acrosome (BURGOS et FAWCETT, 1955; FAWCETT et BURGOS, 1956); mitochondries dans le cas de certains globules vitellins de la Planorbe (globules vitellins d'origine mitochondriale, FAVARD et CARASSO, 1958) ou de la Grenouille (WARD, 1959).

Chez l'*Ascaris*, comme chez la Planorbe, la cellule n'utilise pas des compartiments préexistants, mais elle fabrique des membranes nouvelles qui délimitent alors les territoires sécréteurs. Ces membranes, qui définissent elles-mêmes des cavités ergastoplasmiques, jouent le rôle de barrières séparant des zones de la cellule où le métabolisme apparaît très différent. Ces aspects morphologiques posent évidemment de nombreux problèmes biochimiques concernant la perméabilité de ces membranes et les transports actifs qui peuvent avoir lieu à leur niveau : problèmes généraux dont la sécrétion de l'ascaridine n'est qu'un cas particulier.

2° *Formation des grains à bâtonnet.*

Le phénomène sécrétoire, que nous venons d'étudier dans le chapitre précédent, nous a montré la formation de granules d'ascaridine de 1 à 1,2 μ de diamètre dans le cytoplasme des spermatocytes. Au microscope optique, on voit apparaître dans les cellules plus âgées, à côté de ces granules, de nombreux grains d'ascaridine plus petits. Ces grains grossissent par la suite et à leur surface se forme une incisure qui leur donne l'aspect très caractéristique d'un « grain de café ». L'incisure, qui reste claire quand on traite les coupes par la méthode de Gram, peut elle-même être colorée par diverses techniques (colorations mitochondriales en particulier); elle se présente alors comme un petit « bâtonnet » déprimant la surface des grains. Ces phénomènes ont été décrits depuis longtemps et les cytologistes se sont interrogés sur la nature et la signification des bâtonnets.

L'étude au microscope électronique des stades correspondants nous a permis de mieux comprendre l'enchaînement des phénomènes, sans que nous puissions pour autant en saisir toujours la signification profonde.

Multiplication des granules d'ascaridine.

Lorsque les dernières lames ergastoplasmiques ont disparu à la périphérie d'un granule d'ascaridine nouvellement formé, celui-ci reste quelque temps libre dans le cytoplasme. Puis il se fragmente, donnant naissance à des grains de 0,2 à 0,3 μ de diamètre. Cette fragmentation se fait par des divisions successives qui conduisent, à partir du granule initial, à des grains de plus en plus petits. Ces grains restent tout d'abord côte à côte, constituant des amas ou des

chapelets (pl. 7, fig. c), avant de se disperser dans le cytoplasme. Les mouvements de cyclose sont sans doute à l'origine de cette dissémination.

Les granules d'ascaridine n'ayant pas tous achevé leur croissance au même moment, on rencontre à ce stade, dans une même cellule, à la fois des granules en segmentation, des granules encore entourés de couches ergastoplasmiques et des grains isolés. Cette fragmentation entraîne donc une diminution de la taille des granules d'ascaridine, dont le diamètre devient à peu près trois fois plus petit. Elle entraîne également une augmentation sensible du nombre des inclusions protéiques : en mesurant les diamètres avant et après la fragmentation, on peut estimer *grosso modo* que le nombre des grains se trouve au moins multiplié par trente.

Comme nous l'avons vu précédemment, les granules d'ascaridine prennent naissance à l'emplacement des globules lipidiques du jeune spermatocyte. Chaque globule lipidique est remplacé par un granule d'ascaridine. Les globules étant peu nombreux, le nombre de granules protéiques formés par ce processus est lui-même faible. L'augmentation du nombre de granules n'est donc pas due à une sécrétion nouvelle d'ascaridine, mais à une division des grains déjà sécrétés.

Association des grains avec l'appareil de Golgi, apparition du bâtonnet (fig. 3).

Les grains d'ascaridine, qui proviennent de la fragmentation des granules, ne restent pas isolés au milieu du hyaloplasme. A chacun d'eux, vient s'associer un petit dictyosome constitué de 4 ou 5 saccules dont la longueur ne dépasse pas 0,2 μ . Les saccules sont aplatis, à l'exception de l'un des plus externes qui est très dilaté et dont le contenu est très peu dense aux électrons. Ce saccule dilaté vient se coller contre le grain d'ascaridine (pl. 8, fig. a et b).

Il apparaît ensuite, entre le grain et le saccule, une substance légèrement plus sombre que le fond du hyaloplasme, mais dont le contraste après fixation osmique est cependant beaucoup plus faible que celui de l'ascaridine. Cette substance forme d'abord une large encoche à la surface du saccule golgien; ce dernier reste accolé par ses bords au grain d'ascaridine qui présente alors un méplat (fig. 3; pl. 8, fig. c et d). Le méplat devient peu après une incisure, comme si la substance apparue entre le grain et le saccule s'enfonçait dans l'ascaridine à la manière d'un coin. Ainsi se constitue la première ébauche du bâtonnet qui donne à l'inclusion son aspect en grain de café. Les autres saccules du dictyosome ne changent pas de forme et demeurent aplatis.

Il faut remarquer qu'à ce stade de l'évolution, on observe toujours une mitochondrie filamenteuse étroitement appliquée contre le saccule dilaté (pl. 8); une même mitochondrie est parfois associée

à deux saccules différents. D'autre part, le dictyosome est enveloppé par une vésicule ergastoplasmique aplatie portant des grains RNP. De cette façon se trouvent rassemblés un grain d'ascaridine, un dictyo-

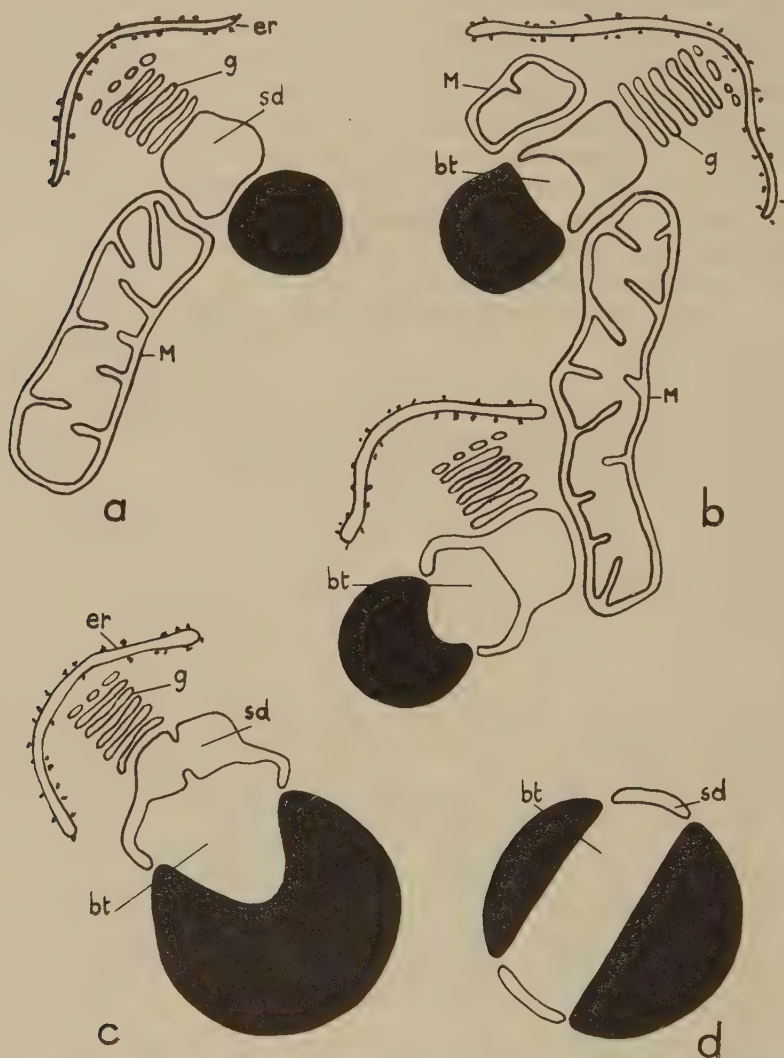


FIG. 3. — Formation des grains à bâtonnet. *a*, un grain d'ascaridine sombre est accolé à un dictyosome (*g*) au niveau du saccule dilaté (*sd*); *b*, entre le saccule dilaté et le grain d'ascaridine s'accumule la substance du bâtonnet (*bt*); *c*, au cours de sa croissance, le grain à bâtonnet reste coiffé par le chapeau golgien (*sd*); *d*, aspect d'un grain à bâtonnet coupé dans un plan perpendiculaire à celui de la figure précédente. Remarquer l'association des mitochondries (*M*) et de l'ergastoplasme (*er*) autour des grains à bâtonnet en formation.

some, une mitochondrie et une vésicule d'ergastoplasme. Nous reviendrons, dans la discussion, sur cette curieuse et si précise association d'organites.

Croissance des grains à bâtonnet.

Après l'apparition du bâtonnet, on observe une croissance générale de tous les grains d'ascaridine. L'augmentation de taille ne concerne pas seulement la partie protéique mais aussi le bâtonnet et le saccule golgien qui le coiffe. C'est une croissance harmonieuse qui fait passer les grains et les structures qui leurs sont directement associées de $0,3 \mu$ de diamètre à 1μ environ. Ce phénomène est long et ne s'achève qu'au début de la diacynèse.

A ce stade, les grains à bâtonnet sont tous semblables et on y

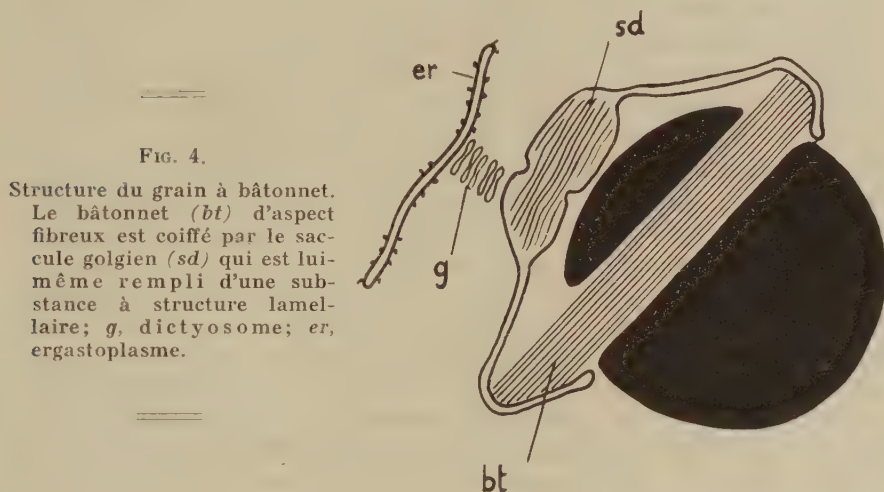


FIG. 4.

Structure du grain à bâtonnet.

Le bâtonnet (*bt*) d'aspect fibreux est coiffé par le saccule golgien (*sd*) qui est lui-même rempli d'une substance à structure lamellaire; *g*, dictyosome; *er*, ergastoplasme.

distingue trois parties : le grain d'ascaridine, le bâtonnet et le saccule golgien qui forme une calotte à la surface de l'incisure. Après fixation osmique, le grain d'ascaridine apparaît très contrasté; le bâtonnet est plus clair, parfois même transparent, et ne montre pas de structure particulière. Le saccule golgien est appliqué contre l'incisure et emprisonne ainsi le bâtonnet (fig. 4). C'est une sorte de chapeau, dont les bords sont aplatis et la région centrale dilatée, faisant saillie à l'extérieur du grain. A l'intérieur de la partie dilatée, on observe de minces lames osmiophiles de $100 \text{ \AA}$ d'épaisseur, enroulées ou empilées les unes sur les autres (fig. 4; pl. 8, fig. e et f). Cette structure rappelle celle des images myéliniques; il s'agit probablement de lipides qui se sont accumulés dans le saccule golgien, mais nous n'avons pu en préciser la nature. Après fixation au permanganate, cette région est transparente comme quand il s'agit d'une inclusion lipidique, dissoute au cours de la déshydratation par les alcools.

Durant la croissance, les autres saccules golgiens sont demeurés de même taille, mais toujours situés près du saccule dilaté. La vésicule

aplatie d'ergastoplasme granulaire embrasse encore le dictyosome. Par contre, les mitochondries sont devenues plus courtes et plus massives (1 μ . de long sur 0,4 à 0,5 μ . de diamètre); en fin de croissance, elles ne sont plus accolées aux saccules golgiens. Leur matrice devient alors très dense aux électrons, et leurs crêtes se distinguent difficilement après fixation osmique.

Structure du bâtonnet.

La fixation au tétroxyde d'osmium ne révèle aucune structure dans les bâtonnets. Leur aspect ressemble à celui du hyaloplasme, mais il varie beaucoup d'une fixation à l'autre. Le formol et le permanganate donnent les mêmes résultats que l'osmium; la présence d'acide phosphotungstique dans l'alcool de déshydratation n'amène rien de nouveau. De toutes ces observations, on retire l'impression que le bâtonnet pourrait être constitué d'un hyaloplasme plus ou moins hydraté.

Mais la coloration des coupes par l'acide phosphotungstique (APT) en solution dans l'alcool absolu nous a permis de révéler des structures au niveau du bâtonnet.

Dans les coupes de testicule fixé par OsO_4 , l'APT fait apparaître une structure finement granulaire dans le bâtonnet. Celui-ci est alors légèrement plus contrasté que le hyaloplasme et il est d'autant mieux visible que l'ascaridine a été dissoute au cours du traitement. Le grain d'ascaridine est transparent tandis que le bâtonnet est sombre. La coloration sur coupe par l'APT a donc inversé les contrastes du grain à bâtonnet, à l'exception de ceux du saccule golgien dont la paroi est devenue plus foncée (pl. 19 et 20).

Cette inversion du contraste est encore plus spectaculaire quand on colore des coupes de matériel fixé au formol. Non seulement le bâtonnet qui était clair devient très dense aux électrons, mais, à fort grossissement, on y observe une structure lamellaire. Ce sont de minces lames parallèles au grand axe du bâtonnet et dont l'épaisseur est de 20 Å. Elles sont distantes chacune de 40 Å et elles s'étendent sur toute la longueur du bâtonnet (pl. 9, fig. *d*, *e* et *f*). Seule la fixation au formol, suivie ou non d'une post-fixation à OsO_4 , nous montre cette structure après coloration des coupes par l'APT. Ni la fixation au tétroxyde d'osmium, ni celle au permanganate ne conservent la structure lamellaire; celle-ci est sans doute désorganisée par ces fixateurs ou insuffisamment consolidée pour résister à la déshydratation ou à l'inclusion.

Le bâtonnet est donc formé d'une substance hautement organisée dont la nature chimique est difficile à préciser. FAURÉ-FREMIET (1913 *b*) a signalé que la méthode de Mallory la colore comme un albuminoïde. Nous pensons comme lui qu'il s'agit d'une protéine.

Ces observations montrent combien il faut se méfier des résultats

obtenus par un seul type de fixation. Le meilleur fixateur n'est pas toujours l'osmium, et la coloration des coupes par l'APT permet de révéler des structures invisibles après d'autres traitements (nous en verrons plus loin un nouvel exemple, p. 88).

L'inversion du contraste de certaines structures après traitement des coupes par l'APT a déjà été décrite par SJÖSTRAND et BAKER (1958). Ces auteurs ont observé ce phénomène sur des coupes de pancréas fixé dans le propane liquide à -196° C, puis déshydraté par cryodessiccation. La coloration par l'APT fait apparaître en clair les membranes ergastoplasmiques et mitochondriales, tandis que le hyaloplasme et la matrice des mitochondries sont plus sombres. En préparant le même matériel par la méthode de cryosubstitution à l'hélium II (méthode de FERNÁNDEZ-MORÁN, 1960), BULLIVANT (1960) a obtenu des résultats comparables sur les membranes golgiennes et mitochondriales, ainsi que sur la membrane limitante des grains de zymogène après coloration par OsO_4 . La fixation par le froid, suivie d'une cryodessiccation ou d'une cryosubstitution, est la technique qui altère le moins les constituants de la cellule. On peut penser que le traitement des coupes par certains réactifs provoque l'extraction de composants des membranes qui ont été très peu dénaturés par cette technique de préparation, alors que l'extraction est beaucoup moins importante dans le hyaloplasme lui-même. Dans le cas de l'ascaridine, nous avons vu que la fixation par agent chimique et les autres traitements qu'impose l'inclusion dans l'araldite dénaturent peu la protéine, puisqu'elle conserve ses caractères très particuliers de solubilité (voir plus haut, p. 66). Nous nous trouvons donc en présence d'une protéine qui a été peu altérée par la technique de préparation et qui se laisse extraire par l'APT, tout comme les constituants membranaires lorsqu'ils n'ont pas été stabilisés par une fixation chimique.

Remarquons qu'après fixation osmique de la muqueuse gastrique du Lézard, la coloration des coupes par le chlorure de chromyle provoque une extraction au niveau des grains de mucus (BULLIVANT et HOTCHIN, 1960). Si la coloration des coupes permet de révéler certaines structures en augmentant leur contraste, elle peut également aider à la détermination et à la localisation cytochimique de constituants qui sont extraits par le colorant.

Discussion.

Comme nous l'avons vu, la formation des grains à bâtonnet débute par une fragmentation des granules d'ascaridine. Il est difficile de comprendre pourquoi les granules se divisent en grains plus petits; s'agit-il d'un changement de l'état physique de la surface des granules qui pourrait être provoqué par une modification du hyaloplasme? Notre étude morphologique ne permet pas de répondre.

L'observation des ultrastructures montre que le bâtonnet apparaît

entre un saccule golgien et un grain d'ascaridine; la formation du bâtonnet coïncide exactement avec l'accolement du saccule contre le grain. Ces faits suggèrent que le matériel du bâtonnet est sécrété par l'appareil de Golgi, et certains cas exceptionnels viennent à l'appui de cette hypothèse : un dictyosome s'accolle parfois à deux grains et on voit se former un bâtonnet sur chacun d'eux, plus rarement, deux dictyosomes s'associent à un même grain sur lequel apparaissent alors deux bâtonnets (voir fig. 3 et pl. 8, fig. *d*).

Il faut remarquer que, dans le cas qui nous intéresse, le matériel sécrété ne reste pas à l'intérieur du saccule golgien, mais qu'il passe dans le hyaloplasme. Un tel fonctionnement de l'appareil de Golgi n'a pas été observé jusqu'ici. Au microscope électronique, on voit très généralement le matériel qui s'accumule dans les dictyosomes rester à l'intérieur des saccules ou donner ensuite naissance, par bourgeonnement, à des grains de sécrétion limités par une membrane. D'une manière générale, il est probable que des passages de substances se font de l'intérieur des saccules vers le hyaloplasme, mais, comme ces substances sont sans doute rapidement diluées dans la masse du cytoplasme, il n'est pas possible de suivre morphologiquement un tel phénomène. Chez l'*Ascaris*, le saccule golgien est étroitement accolé au grain d'ascaridine, et la substance sécrétée ne peut diffuser dans le hyaloplasme, puisqu'elle reste emprisonnée entre le grain et la membrane du saccule. Ce saccule, qui forme un chapeau à la surface du grain, est très solidement attaché à celui-ci; en effet, quand on sépare mécaniquement les grains à bâtonnet des autres organites, ils conservent toujours leur chapeau golgien (pl. 8, fig. *a*, ZALTA et FAVARD, non publié). Remarquons à cette occasion que, lorsque les grains sont isolés, la protéine du bâtonnet est mieux fixée par OsO_4 que quand ils sont *in situ* : la structure lamellaire du bâtonnet est alors conservée (pl. 8, fig. *b* et *c*).

Signalés par HERTWIG en 1890, les bâtonnets ont été interprétés différemment selon les auteurs. Pour TRETJAKOFF (1905), MAYER (1908), ROMIEU (1911) et HIRSCHLER (1913), le bâtonnet était constitué par des mitochondries fusionnées. FAURÉ-FREMIET (1913 *b*) montra que cette interprétation, fondée sur la colorabilité du bâtonnet par la méthode Benda, ne pouvait être acceptée. Discutant le travail d'HIRSCHLER, BOWEN (1925) pense que le bâtonnet est un granule acrosomien et STURDIVANT (1934) se range à cette dernière opinion. Reprenant les idées de PARAT (1929) sur le chondriome actif, FILHOL (1937) revient à une interprétation mitochondriale. HOVASSE (1958), qui a observé au microscope électronique le grain et son échancrure coiffée d'un saccule golgien, considère que le bâtonnet correspond à une « homogénéisation » de la masse d'ascaridine.

Nos observations nous permettent d'interpréter le bâtonnet comme un produit de sécrétion de l'appareil de Golgi. Accumulé probablement dans le saccule golgien dilaté, le produit de sécrétion passe ensuite à l'extérieur, mais reste concentré entre l'appareil de Golgi et le

grain d'ascaridine; ceux-ci forment une barrière l'empêchant de se diluer dans le hyaloplasme. Il reste à expliquer pourquoi le passage est polarisé et pourquoi seule la portion de membrane située contre l'ascaridine laisse passer le produit de sécrétion. Le cadre morphologique où nous nous sommes maintenu ne fournit pas d'éléments de réponse. Quand la sécrétion du bâtonnet est achevée, il s'accumule dans le chapeau golgien un matériel lipidique ou lipoprotéique donnant des structures de type myélinique. La présence de lipides dans les saccules golgiens est exceptionnelle; elle a cependant été signalée par YAMADA et ISHIKAWA (1960) dans les cellules du corps jaune. Ce matériel persistera dans l'appareil de Golgi jusqu'à la fécondation, ce qui semble indiquer que l'activité sécrétoire de cet organite est terminée dès la fin de la croissance des grains.

La croissance générale des grains, qui se produit après l'apparition des bâtonnets, prouve que la quantité d'ascaridine augmente alors dans les spermatocytes. Ceci montre qu'après la formation des granules d'origine ergastoplasmique, le phénomène sécrétoire reprend. Les divers phénomènes se chevauchant, on peut dire qu'en fait la sécrétion d'ascaridine n'a jamais totalement cessé dans la cellule. Mais cette nouvelle phase sécrétoire ne s'accompagne pas d'une nouvelle différenciation de « Nebenkerne » ergastoplasmiques. Par contre, se rassemblent près de chaque grain trois organites différents : une mitochondrie, une vésicule ergastoplasmique et un dictyosome. Il est difficile, en l'absence de documents biochimiques, de préciser leurs rôles respectifs, mais leurs métabolismes sont sans doute intimement liés.

Le dictyosome sécrète probablement le bâtonnet, nous en avons discuté plus haut. Les récentes analyses de KUFF et DALTON (1959) montrent que les substances sécrétées par l'appareil de Golgi ne sont certainement pas synthétisées à son niveau. On peut supposer que la substance du bâtonnet, ou un précurseur de celle-ci, est tout d'abord synthétisée au niveau de la vésicule ergastoplasmique qui se trouve près du dictyosome. De tels rapports entre l'appareil de Golgi et l'ergastoplasme sont admis dans de nombreux cas (FAWCETT, 1959). Dans cette association, la mitochondrie joue peut-être le rôle de fournisseur d'énergie. Quant à l'ascaridine qui continue à être sécrétée, il est vraisemblable qu'elle est synthétisée dans le cytoplasme en rapport avec des grains RNP. Mais pourquoi la sécrétion ne se fait-elle plus à l'intérieur d'un compartiment cellulaire délimité par l'ergastoplasme comme lors de la formation des granules ? L'ascaridine étant une substance pseudo-cristalline (CHAMPETIER et FAURÉ-FREMIET, 1937 *a* et *b*), on peut imaginer que la condensation de la protéine en un granule primitif n'est possible que si un certain taux de concentration est localement atteint. Les couches ergastoplasmiques, qui empêchent les dilutions par les mouvements de cyclose, permettent une augmentation de la concentration en protéine qui

peut alors se condenser en granules. Après la fragmentation des granules, les grains serviraient de germes de cristallisation. Les molécules d'ascaridine nouvellement formées pourraient alors se fixer à leur niveau, sans que la concentration en ascaridine ait besoin d'être localement élevée.

II. — PHÉNOMÈNES NUCLÉAIRES

1° *Evolution des chromosomes.*

L'ultrastructure des chromosomes au cours de la prophase de méiose a fait l'objet de quelques travaux (RIS, 1956, 1958; DE ROBERTIS, 1956; BOPP-HASSENKAMP, 1959, 1960; revue de KAUFMANN et coll., 1960), mais, à part les tout premiers stades, on peut dire qu'aucune des images publiées n'apporte avec une évidente clarté des éléments permettant de comprendre l'organisation chromosomique. L'*Ascaris* n'échappe pas à la règle et c'est pourquoi nous n'insisterons que sur le commencement de la prophase.

Après leur multiplication, les gonies se séparent du rachis et entrent peu après en prophase. Le noyau de ces cellules, qui jusque-là montrait des mottes de chromatine, prend un aspect plus homogène. Le nucléoplasme apparaît piqué de grains osmiophiles dont il n'est guère prudent d'insister sur les détails ultrastructuraux (pl. 10, fig. *a*). A un des hémisphères du noyau, on remarque des filaments associés par paire et que l'orientation des coupes permet de suivre sur un trajet plus ou moins long (pl. 10, fig. *a*). A plus fort grossissement, ces filaments se présentent comme des rubans de 120 Å d'épaisseur et de 500 Å de largeur (pl. 10, fig. *b* et *c*). Certaines images montrent, entre les deux rubans, un filament axial plus petit de 100 Å de diamètre environ, mais il n'est pas toujours visible.

Ces structures sont identiques à celles décrites chez un Orthoptère et un Batracien par MOSES (1956 *a* et *b*, 1958 *a* et *b*); il nomme les filaments « cores » et leur association le « synaptinomal complex ». Les éléments centraux ont été retrouvés depuis chez de nombreux Vertébrés et Invertébrés (FAWCETT, 1956; SOLETO et TRUJILLO-CENOZ, 1958, 1960; GUENIN et GAUTIER, 1960), ainsi que chez des Plantes (CHARDART, 1960). Comme l'a bien souligné MOSES (1958), le nucléoplasme est condensé autour des éléments centraux, et il s'agit probablement d'un amas de filaments de chromatine; ces aspects s'observent également chez l'*Ascaris* (pl. 10, fig. *c*). Nous ne pouvons affirmer qu'au stade où apparaissent les éléments centraux, les chromosomes sont déjà appariés et que nous sommes au zygotène, comme le pense MOSES.

Au stade suivant de la prophase, les chromosomes sont parfaite-

ment reconnaissables après fixation osmique et ils sont toujours plus denses que le nucléoplasme. Les éléments centraux ne sont plus visibles (pl. 11 et pl. 12), alors que chez certaines espèces, comme *Otala vermiculata*, ils persistent jusqu'à la métaphase (ROTH, 1958). Nous ne nous sommes pas attaché à la structure fine des chromosomes à partir du stade pachytène, car elle est trop subjective : on croit distinguer des filaments doubles, des hélices, des tubules, etc., mais tous ces détails sont trop peu contrastés, trop proches du pouvoir séparateur de l'instrument, trop sujets aux caprices d'un éclairage cohérent, pour inspirer une réelle confiance.

2° Evolution du nucléole dans les spermatocytes de premier ordre.

Croissance du nucléole.

Dans le noyau des spermatocytes jeunes, on observe un ou parfois deux nucléoles globuleux. Après fixation osmique, le nucléole apparaît très dense aux électrons. Il est constitué d'un amas de particules de 100 à 150 Å de diamètre, enrobées dans une substance amorphe. Ces particules ont un contraste un peu plus élevé que celui du fond et, à fort grossissement, on remarque que seule leur périphérie est dense, tandis que leur centre est plus clair. Certaines de ces particules sont allongées, ce qui leur donne l'aspect de courts tubules à paroi osmophile, creusés d'une cavité de 40 Å environ. Il ne semble pas que toutes les particules soient allongées comme de petits bâtonnets.

Cette structure particulière du nucléole des spermatocytes est très comparable à celle observée par de nombreux auteurs dans des cellules très diverses (PORTER, 1954, 1958; BERNHARD et coll., 1955; DE ROBERTIS, 1956; LAFONTAINE, 1958; BERNHARD, 1959; BROWN et RIS, 1959; etc.). Nous n'avons pu mettre en évidence, même sur coupes épaisses (supérieures à 1 000 Å), des fibrilles comme celles qui ont été décrites par YASUZUMI et coll. (1958), BOPP-HASSENKAMP (1959), SWIFT (1959) ou DAVIS (1960). Nous devons reconnaître que les micrographies publiées par ces auteurs n'entraînent pas la conviction ; sont-ils trahis par la reproduction de leurs documents ou sont-ils abusés par des idées a priori qui leur font voir plus que l'image ne peut montrer ? Personnellement, nous pensons qu'il convient d'être très prudent dans l'interprétation des structures nucléaires, qu'elles soient chromosomiques ou nucléolaires. Les fibrilles que l'on croit voir çà ou là sont toujours de très courts segments dont les diamètres varient d'un auteur à l'autre, et il est hasardeux de vouloir y retrouver à tout prix la double hélice de Crick et Watson.

Si, pendant la prophase, le nucléole est toujours constitué de particules de 150 Å, par contre, sa structure générale se modifie. Au

stade où les chromosomes forment un « complexe synaptique », c'est-à-dire au tout début de la prophase (voir plus haut, p. 80), le nucléole a un diamètre de $1,2 \mu$ environ. Il est massif, creusé seulement d'une cavité centrale, sorte de vacuole nucléolaire remplie d'une substance dont l'aspect est très semblable à celui du nucléoplasme (pl. 10, fig. *a*). Lorsque commence la formation des « Nebenkerne » ergastoplasmiques autour des globules lipidiques, le nucléole augmente de taille et il se forme de nombreuses cavités qui lui donnent un aspect réticulé (pl. 11, fig. *a* et *b*). Son diamètre est alors de $1,7 \mu$. Cette structure réticulée ne peut être interprétée comme un peloton filamenteux représentant le nucleolonema d'ESTABLE et SOTELO (1951, 1955). Il s'agit, en fait, d'un nucléole très spongieux dont les cavités ne paraissent pas très différentes du nucléoplasme. Quand débute la sécrétion d'ascaridine, le nucléole a encore grandi et atteint $2,4 \mu$ de diamètre. Au cours de la formation des grains à bâtonnet, le nucléole conserve cette même taille, mais les cavités sont moins nombreuses et plus vastes; certaines sont même en communication directe avec le nucléoplasme (pl. 12, fig. *a*).

Ainsi, avant que ne commence la sécrétion d'ascaridine, on observe une croissance du nucléole qui double de diamètre. Cette croissance nucléolaire au cours de la prophase a déjà été signalée par PANIJEL (1951), et il faut la rapprocher de l'active synthèse protéique qui a lieu pendant la sécrétion. On sait que les cellules dont l'anabolisme est élevé possèdent un nucléole hypertrophié (VINCENT, 1955). Un exemple particulièrement suggestif de ce phénomène est fourni par les ovocytes de premier ordre en prévitellogenèse et en vitellogenèse (FAUTREZ, 1959 *a* et *b*). Or, à bien des égards, la sécrétion d'ascaridine est comparable à celle des grains de vitellus (PASTEELS, 1948; PANIJEL, 1951). Chez l'*Ascaris*, avant l'apparition des granules protéiques, on observe un accroissement de la masse du cytoplasme dont la basophilie augmente, un gonflement du noyau et une croissance du nucléole. Ces phénomènes caractérisent également une vitellogenèse.

Le nucléole non seulement augmente de volume, mais encore il se creuse de nombreuses cavités ou vacuoles. Depuis le travail de MONTGOMERY (1898), de tels nucléoles vacuolaires ont été décrits dans des ovocytes appartenant à des espèces très variées (voir FAUTREZ, 1959 *a*). Dans les spermatocytes d'*Ascaris*, nous voyons apparaître, au milieu d'un nucléole massif, de petites vacuoles dont le nombre augmente très sensiblement au cours de la croissance de cet organe; ces vacuoles se fusionnent sans doute par la suite, puisqu'elles deviennent moins nombreuses et plus grandes. Les vacuoles nucléolaires ne sont donc pas des structures permanentes; peut-être résultent-elles de la séparation de deux phases différentes comme le suggèrent BOLOGNARI (1957 *a* et *b*) et SERRA (1958 *a*) ? Comme leur contenu ne se distingue pas du nucléoplasme, il est difficile de savoir si les vacuoles renferment des produits provenant de l'activité métabolique du nucléole.

Le nucléole a en général une position excentrique et il est souvent placé près de la membrane nucléaire. Cette situation est-elle liée à des passages d'ARN ou de protéines, synthétisés dans le nucléole, en direction du cytoplasme ? Nos micrographies ne nous ont apporté aucune confirmation morphologique d'une telle hypothèse.

Rapports du nucléole avec les chromosomes.

A partir du stade pachytène, le nucléole et les chromosomes sont étroitement associés. Certains segments chromosomiques viennent toucher le nucléole et s'insinuent même à l'intérieur de ses cavités. Après fixation osmique, le nucléole est reconnaissable à sa grande densité et il se distingue nettement des chromosomes qui sont beaucoup moins contrastés (pl. 11, fig. *a* et *b*). De tels rapports entre le nucléole et les chromosomes ont été observés au microscope électronique dans les méristèmes radiculaires, par LAFONTAINE (1958) et BUVAT (communication personnelle). Cette association signifie peut-être qu'il existe, au niveau des chromosomes, un organisateur nucléolaire, comme l'ont imaginé HEITZ (1931), MC CLINTOCK (1934), RATTENBURY et SERRA (1952). Il n'est cependant pas évident que l'accroissement de la masse du nucléole provienne de l'activité des seuls segments chromosomiques qui sont accolés à celui-ci. En effet, au stade pachytène, on observe, au voisinage du nucléole, de petites masses de 0,1 à 0,2 μ de diamètre, dont la structure granulaire et la densité aux électrons sont identiques à celles du nucléole. Ces masses sont certainement des fragments nucléolaires, car elles sont parfois reliées par des ponts au nucléole (pl. 11, fig. *c* et *d*). Elles ne sont pas seulement situées près du nucléole, mais il en existe de nombreuses autres en périphérie des chromosomes (pl. 12, fig. *a* et *b*) ; quelques-unes sont séparées des chromosomes par une mince couche de nucléoplasme, d'autres sont en continuité directe avec ces organites.

La présence de ces fragments de structure nucléolaire suggère que certaines portions périphériques des chromosomes, distinctes de celles situées contre le nucléole, peuvent donner naissance à des constituants nucléolaires. Quelques-uns d'entre eux pourraient se détacher des chromosomes et, se fusionnant avec le nucléole, ils contribueraient à l'augmentation de sa masse. Ces fragments représentent sans doute des portions hétérochromatiques, au niveau desquelles se fait une active synthèse d'ARN ; il n'est pas non plus impensable que cet ARN soit lui-même associé à des synthèses protéiques en rapport avec la sécrétion d'ascaridine. On sait, à la suite des idées de CASPERSSON (1950), combien d'hypothèses de ce type sont actuellement formulées pour interpréter les recherches effectuées par autoradiographie (FICO, 1959 ; SURLIN, 1960). Nos images ne sont pas en désaccord avec de tels schémas, d'autant plus qu'ils semblent confirmés par la sécrétion nucléolaire que l'on observe à la diacinèse.

Sécrétion nucléolaire.

A la fin du stade diplotène, les chromosomes ne possèdent plus de masses nucléolaires à leur périphérie. Au début de la diacinèse, le nucléole, dont les vacuoles sont alors très vastes, se fragmente en petits nucléoles de tailles variées (0,2 à 0,6 μ). Ceux-ci se disposent alors au bord de la membrane nucléaire, puis disparaissent (pl. 15, fig. a). Cette fragmentation rappelle ce qui a été décrit dans certaines ovogenèses; WISCHNITZER (1958) en a montré quelques aspects au microscope électronique chez la Grenouille. Cette disparition des petites masses nucléolaires et du nucléole a lieu au moment où les grains à bâtonnet ont terminé leur croissance; elle marque sans doute la fin des synthèses nucléolaires qui sont en rapport avec la sécrétion d'ascaridine.

Pourtant, toute activité anabolique n'est pas terminée dans le noyau. Peu avant que les chromosomes se condensent en tétrades, on voit se former contre ceux-ci une ou deux masses de granules. Ces granules ont un centre clair, mesurent 150 Å de diamètre et certains ont la forme de petits bâtonnets. Ils sont identiques aux particules que nous avons décrites plus haut dans le nucléole, mais ils se distinguent plus aisément car ils ne sont pas enrobés d'une matrice dense aux électrons. Au cours de la diacinèse, leur nombre augmente et ils constituent bientôt un amas de 2 μ de diamètre. Ainsi s'édifie contre les chromosomes un nouveau nucléole; on ne peut en effet appeler autrement une telle formation qui, sur coupes épaisses, se montre Feulgen négative et pyroninophile. Les coupes à la paraffine de ces stades montrent très nettement un nucléole collé contre une tétrade (pl. 12 et 13).

Tandis que se forme ce nouveau nucléole, on voit grandir, au milieu de la masse nucléolaire, des globules denses aux électrons et d'aspect homogène. Ils ne sont d'abord que deux ou trois, puis, lorsque le nucléole atteint son plus grand développement, on en compte une dizaine dans une même coupe; leur taille s'échelonne entre 0,2 et 0,7 μ (pl. 13, fig. a et b). A la fin de la diacinèse, ces globules se fusionnent en une seule masse qui constitue alors une sphère de 2 μ de diamètre (pl. 13, fig. c). A ce stade, les granules nucléolaires de 150 Å ont disparu et le globule se sépare des chromosomes. Il se porte ensuite vers la périphérie du noyau et se désagrège en donnant naissance à des grains de plus en plus petits qui disparaissent dans le nucléoplasme (pl. 15, fig. b et c). Notons que cette désagrégation débute en bordure du globule et gagne progressivement le centre. Durant ces phénomènes, les asters se sont mis en place, mais la membrane nucléaire n'est pas encore rompue (pl. 13, fig. c).

Ces observations montrent qu'au niveau du nucléole nouvellement formé, s'accumule une substance qui se condense en une grosse

inclusion. Nous assistons donc à une sécrétion nucléolaire et un tel phénomène mérite de retenir notre attention.

Il convient de se demander tout d'abord quelle est la nature chimique du produit de sécrétion. L'aspect des globules nucléolaires au microscope électronique rappelle celui des granules d'ascaridine; ils ont en effet la même structure homogène et ils présentent le même contraste. Au microscope optique, les techniques histochimiques montrent qu'à la diacinèse le nucléole est très fortement Gram positif. A cette échelle, on ne peut distinguer les globules nucléolaires au milieu de la masse du nucléole; d'autre part, ce caractère tinctorial ne prouve rien, car dès le début de la croissance nucléolaire, qui accompagne la sécrétion d'ascaridine, le nucléole est déjà Gram positif, comme l'ont signalé avant nous FILHOL (1937) et PANIJEL (1951). Ce qu'il nous fallait, c'est une détermination histochimique à l'échelle du microscope électronique. C'est pourquoi nous avons cherché à savoir si les globules nucléolaires présentaient les mêmes caractères de solubilité que l'ascaridine.

En traitant les coupes ultra-minces par l'eau chaude ou par des solutions alcalines diluées ou encore par l'acide phosphotungstique en solution dans l'alcool absolu, on observe, au microscope électronique, à la fois la disparition de l'ascaridine des grains à bâtonnet et celle de la substance qui constitue les globules du nucléole (pl. 14, fig. *a* et *b*). Nous avons obtenu ces résultats aussi bien sur du matériel fixé au tétroxyde d'osmium que sur du matériel fixé au formol (pl. 14, fig. *c* et *d*). Un comportement aussi identique des deux types d'inclusions conduit à penser qu'elles sont de même nature. Nous avons déjà souligné les caractères de solubilité très exceptionnels que possède l'ascaridine, et, dans l'état actuel des connaissances, on peut les considérer comme spécifiques de cette protéine. La substance sécrétée au niveau du nucléole est donc très certainement de l'ascaridine. Pour en être tout à fait sûr, il conviendrait d'isoler les globules nucléolaires et de les comparer à l'ascaridine, en utilisant par exemple des techniques immunologiques. Nous n'avons pu envisager d'entreprendre seul un tel travail.

L'apparition de grains de sécrétion dans le nucléole n'a pas été observée jusqu'ici au microscope électronique. Les particules denses de 70 à 200 Å de diamètre (« foamy particles »), décrites dans les nucléoles de l'Amibe (COHEN, 1957) ou dans ceux de l'*Allium cepa* et de *Vicia faba* (LAFONTAINE, 1958), correspondent peut-être à des produits de sécrétion, mais leur nature chimique n'est malheureusement pas connue. Les analyses histochimiques d'ovocytes en accroissement montrent qu'un certain nombre de composés sont stockés au niveau du nucléole : composés APS positifs, aldéhydes libres, protéines à groupes —SH, protéines sidérophiles ou tanophiles (FAUTREZ, 1959; MARTOJA et MARTOJA-PIERSON, 1959). Chez l'*Ascaris*, nous voyons se former, dans les spermatocytes en fin de prophase, des globules protéiques au niveau du nucléole. Nos observations ne

permettent pas d'affirmer que la protéine, qui est sécrétée dans le nucléole, est également synthétisée à son niveau; mais à la lumière de ce que l'on connaît du métabolisme nucléolaire, une telle hypothèse peut être raisonnablement envisagée. Depuis les travaux de CASPERSSON (1941), on sait que le nucléole est sans doute le siège d'actives synthèses protéiques, et les études autoradiographiques viennent confirmer un tel schéma (FICQ, 1955, 1959; SIRLIN et WADDINGTON, 1956; PANTELOURIS, 1958; CARNEIRO et LEBLOND, 1959; SISKEN, 1959; etc.).

La protéine qui est sécrétée dans le nucléole est, comme nous l'avons vu plus haut, très certainement de l'ascaridine. Le noyau, ou plus probablement le nucléole, est donc capable de synthétiser une protéine identique à celle des grains de sécrétion qui se forment dans le cytoplasme. Un tel fait peut s'interpréter de deux façons : ou bien l'ARN nucléolaire et l'ARN cytoplasmique sont de même nature et peuvent ainsi déterminer la synthèse de protéines identiques (une telle hypothèse est en faveur d'un passage de l'ARN nucléolaire vers le cytoplasme), ou bien le nucléole est capable de synthétiser de l'ascaridine, ou un précurseur de celle-ci, qui traverse ensuite la membrane nucléaire pour aller se condenser dans le cytoplasme. De tels processus sont très couramment imaginés par ceux qui étudient le trajet des précurseurs marqués dans la cellule (GOLDSTEIN et MICOU, 1959 *a* ; KING et BURNETT, 1959 ; ZALOKAR, 1960 *a* et *b* ; PERRY et coll., 1961 ; etc.). Ces deux hypothèses ne s'excluent d'ailleurs pas l'une l'autre; il se peut que durant la période qui précède l'apparition des granules d'ascaridine dans le cytoplasme, l'augmentation de la basophilie cytoplasmique soit due à un passage d'ARN nucléolaire dans le cytoplasme; au cours de la croissance des grains à bâtonnet, l'ascaridine sécrétée proviendrait à la fois de synthèses ayant lieu au niveau du nucléole et des grains RNP de l'ergastoplasme. Il faut signaler, à ce propos, que pendant toute la prophase, le nucléole est très fortement Gram positif; cette propriété est peut-être liée à la présence d'ascaridine, mais on sait que cette réaction est loin d'être spécifique (PEARSE, 1960).

Lorsque les grains à bâtonnet ont atteint leur taille maximum, on peut admettre que le cytoplasme est saturé en ascaridine et que les passages de précurseurs, ou de la protéine elle-même, sont arrêtés dans le sens noyau-cytoplasme. Les synthèses au niveau du nucléole ne cesseraient pas immédiatement, et l'ascaridine continuant à être élaborée se condenserait en grains de sécrétion dans le nucléole. Dans cette hypothèse, la sécrétion nucléolaire traduirait une disharmonie entre le métabolisme du nucléole et celui du cytoplasme.

Dans le paragraphe précédent, nous avons insisté sur les rapports morphologiques qui existent entre le nucléole et les chromosomes; comme nous l'avons vu, des fragments nucléolaires pourraient même prendre naissance dans le nucléoplasme contre les chromosomes. En effet, le nouveau nucléole qui se forme à la diacinèse apparaît au

niveau de la tétrade et il reste étroitement accolé à celle-ci pendant la sécrétion nucléolaire. Ces observations viennent à l'appui de l'hypothèse selon laquelle l'ARN serait d'abord synthétisé au niveau des chromosomes, hypothèse que semblent confirmer les travaux autoradiographiques récents (SWIFT, 1958; GALL, 1958; FICQ et coll., 1959; GOLDSTEIN et MICOU, 1959 *b*; PELLING, 1959; etc.).

III. — ACHÈVEMENT DE LA PROPHASE DE PREMIÈRE DIVISION

1° Formation des asters.

Au cours de la diacinèse, apparaît contre la membrane nucléaire une zone cytoplasmique dépourvue d'organites. Cette zone se constitue autour d'un diplosome et s'accroît progressivement en repoussant, à sa périphérie, les grains à bâtonnet et les mitochondries; la membrane nucléaire, d'une part, et de petites vésicules aplaties de l'ergastoplasme, d'autre part, en marquent les limites (pl. 15, fig. *d* et *e*). Ce territoire hyaloplasmique, qui, à l'exception des centrioles, ne renferme aucun organite, correspond à l'aster en formation décrit par les anciens observateurs.

L'ultrastructure des centrioles est tout à fait comparable à celle qui a été observée dans de nombreux types cellulaires, à la suite des travaux de BERNHARD et DE HARVEN (1956, 1958). On y reconnaît les 9 groupes de tubules qui forment la paroi d'un cylindre mesurant environ 170 m μ de diamètre et 250 m μ de haut (ces dimensions sont du même ordre que celles des centrioles de Vertébrés, voir DE HARVEN et BERNHARD, 1956). Les centrioles du diplosome sont disposés perpendiculairement (pl. 15, fig. *f*).

Après fixation des spermatocytes au tétroxyde d'osmium ou au permanganate, le cytoplasme de la zone astérienne n'apparaît pas différent des autres régions de la cellule. La fixation osmique y met en évidence quelques particules denses de 150 Å de diamètre, qui représentent probablement des grains RNP, car le permanganate ne les révèle point. La seule différenciation structurale de l'aster se situe autour du diplosome, mais seul l'osmium permet de l'observer. En effet, on peut voir autour des deux centrioles un matériel osmiophile formant une sphère de 1,8 μ de diamètre dont les limites sont assez diffuses (pl. 16, fig. *a* et *b*; pl. 17). Ainsi, les centrioles apparaissent situés au centre d'une sphère hyaloplasmique dont les affinités pour le tétroxyde d'osmium sont beaucoup plus grandes que celles du reste de l'aster. Une telle observation n'a rien de très surprenant, car BOVERI (1888, 1900), BRAUER (1893), FÜRST (1898) et d'autres ont

depuis bien longtemps décrit, chez l'*Ascaris* mâle ou femelle, une zone dense et osmiophile autour des centrioles des cellules en division. BOVERI (1888) nomma ce hyaloplasme péricentriolaire *archoplasme*; nous conserverons cette nomenclature.

L'observation au microscope électronique des spermatocytes en fin de prophase nous montre donc l'organisation d'un aster typique repoussant les organites cytoplasmiques à sa périphérie. On reconnaît parfaitement à son niveau le centrosome avec ses centrioles entourés d'archoplasme. Malheureusement, la technique de préparation et d'observation des cellules ne révèle pas d'autres structures au niveau de l'aster. Sur certaines coupes épaisses, on a souvent l'impression que le hyaloplasme astérien possède une organisation rayonnante autour du centrosome, mais les images obtenues ne sont pas très convaincantes. Quand on a sous les yeux les magnifiques lithographies publiées à la fin du siècle dernier par des observateurs aussi étonnants que BOVERI, BRAUER ou FÜRST, il est décevant de ne pas retrouver, sur les micrographies électroniques, les fibres astériennes qu'ils ont si bien représentées.

En ajoutant, au cours de l'inclusion des pièces fixées par OsO_4 de l'acide phosphotungstique à l'alcool de déshydratation, on augmente beaucoup le contraste des structures. Le hyaloplasme astérien apparaît alors avec une disposition nettement rayonnante autour du centrosome, mais les images obtenues ne sont pas satisfaisantes. Tout se passe comme si le hyaloplasme de l'aster s'était coagulé de façon orientée à la suite de ce traitement; il n'est donc pas possible de savoir si la structure rayonnante correspond à une organisation fibrillaire du hyaloplasme ou s'il s'agit d'un artefact dû à la technique de préparation. Les images obtenues rappellent celles publiées par LEHMANN (1958) dans les cellules de *Tubifex* en division, après fixation par des mixtures très acides (pH compris entre 3,3 et 3,5; LEHMANN et MANCUSOT, 1958).

Nous avons vu précédemment (voir p. 76) l'intérêt de la coloration des coupes par l'acide phosphotungstique (APT) en solution alcoolique. Ici encore, cette technique nous a permis de mettre en évidence des structures que les méthodes habituelles de préparation ne permettent pas de révéler. Après cette coloration, le hyaloplasme astérien apparaît rempli de fibrilles dont la disposition rayonnante est particulièrement nette (pl. 16, fig. b).

Ces fibrilles ont un diamètre de 150 à 200 Å; seule leur périphérie se montre dense aux électrons, ce qui leur donne l'aspect de tubules, nous les appellerons fibrilles astériennes. Il est difficile de se faire une opinion sur la longueur réelle des fibrilles; dans les coupes qui passent au niveau du centriole, on peut suivre la même fibrille sur une longueur de 1 à 1,5 μ . Il est probable qu'elles sont beaucoup plus longues.

Les fibrilles astériennes convergent vers le centrosome et certaines pénètrent dans l'archoplasme; elles ne viennent cependant jamais en

contact direct avec les centrioles. L'archoplasme apparaît alors constitué, d'une part de fibrilles astériennes, d'autre part d'une substance hyaloplasmique dense aux électrons qui enrobe les fibrilles et gêne l'observation. A mesure que l'on se dirige vers la périphérie de l'aster, la densité des fibrilles diminue. Les fibrilles astériennes ne semblent pas traverser la membrane nucléaire, par contre certaines s'étendent au-delà des vésicules ergastoplasmiques qui bordent l'aster; elles pénètrent alors entre les mitochondries et les grains à bâtonnet (pl. 16, fig. *b*). La coloration des coupes par l'APT nous montre donc, au niveau de l'aster, des fibrilles dont la disposition concorde avec les observations de la cytologie classique. Nous reviendrons, dans la discussion, sur la signification de ces ultrastructures.

Après que les centrosomes se soient dédoublés, on observe deux asters qui s'éloignent l'un de l'autre; ces mouvements les amènent à se trouver diamétralement opposés de part et d'autre du noyau. Chacun des asters comporte les mêmes constituants : un centrosome formé de deux centrioles entourés d'archoplasme d'où rayonnent de nombreuses fibrilles astériennes (pl. 16, fig. *a*). Nous n'avons malheureusement pas pu suivre le dédoublement du centrosome et nous ne pouvons rien dire sur cette duplication centriolaire. Remarquons qu'au niveau de chacun des asters, la membrane nucléaire est toujours invaginée en face du centrosome, comme si elle était repoussée par le hyaloplasme astérien (pl. 15, fig. *e*). Les fibrilles de chacun des asters ne semblent pas s'interpénétrer. A la fin des mouvements astériens, le noyau du spermatocyte apparaît flanqué de deux zones de hyaloplasme dépourvues d'organites; les diplosomes sont en général placés assez près du noyau, et l'archoplasme vient presque toucher la membrane nucléaire (pl. 16, fig. *a*).

2° Rupture de la membrane nucléaire.

Lorsque l'amphiaster est en place, la membrane nucléaire se rompt en plusieurs endroits. Les ruptures commencent toujours dans les zones qui sont situées juste en face des centrosomes et qui, comme nous l'avons signalé plus haut, sont légèrement invaginées (pl. 18, fig. *a* et *b*). La membrane nucléaire apparaît alors fragmentée en vésicules aplaties de dimensions variées, qui se fractionnent elles-mêmes en vésicules plus petites. La région équatoriale de la membrane nucléaire n'est pas touchée par cette fragmentation; par contre, il s'y forme quelques indentations souvent très prononcées (pl. 19, fig. *a*).

Au début de leur formation, les vésicules provenant de la membrane nucléaire se distinguent des vésicules ergastoplasmiques situées à la périphérie des asters, car elles sont beaucoup plus aplaties que ces dernières et ne possèdent pas de grains RNP. Puis, elles se dilatent

et sont alors très comparables aux vésicules de l'ergastoplasme; enfin, elles disparaissent sur place.

Au commencement de la métaphase, il persiste encore un large anneau équatorial de membrane nucléaire (pl. 18 et pl. 21) qui se fragmente à son tour avant de disparaître.

3° *Evolution du nucléoplasme.*

Dès que la membrane nucléaire se rompt en face des asters, on observe des changements importants dans la structure du nucléoplasme. Dans la partie du nucléoplasme comprise entre les asters et les chromosomes apparaissent des fibrilles de 150 Å de diamètre que la coloration des coupes par l'APT révèle parfaitement. Ces fibrilles ont une structure identique à celle des fibrilles astériennes, et leur orientation est très nettement polarisée par les centrosomes (pl. 20, fig. *a* et *b*). Comme dans le cas des fibrilles astériennes, la faible épaisseur des coupes ne permet pas de les suivre sur toute leur longueur, aussi n'est-il pas possible d'estimer avec précision leur plus grande dimension. Il faut remarquer que de nombreuses fibrilles sont fixées au bord des chromosomes, dans la zone où ceux-ci font face aux asters. La coloration à l'APT montre que les bords des chromosomes, au niveau desquels s'attachent les fibrilles, prennent beaucoup plus fortement le colorant (pl. 19, fig. *a*); leur structure n'est pas différente de celle des autres régions des chromosomes, elle est seulement plus contrastée. A ce stade, on observe de nombreuses fibrilles, allant du nucléoplasme au hyaloplasme, entre lesquelles se trouvent coincés des restes de membrane nucléaire en voie de disparition (pl. 19, fig. *b*).

Ainsi, le nucléoplasme compris entre les tétrades et les centrosomes prend une structure identique à celle que nous avons décrite dans le hyaloplasme astérien. Par contre, le nucléoplasme de la région équatoriale, qui est situé entre les chromosomes et le reste de la membrane nucléaire, prend un aspect tacheté. Il se forme en effet de très nombreux amas denses aux électrons, assez régulièrement espacés (pl. 20, fig. *a* et *b*). L'observation de ces amas à fort grandissement ne permet pas une interprétation cohérente de leur ultrastructure; on y distingue des particules enrobées dans une substance plus dense, mais rien de très net ni de très caractéristique. Nous appellerons cette partie du nucléoplasme : le *nucléoplasme équatorial*.

Au moment de la rupture de la membrane nucléaire, le nucléoplasme subit donc une double évolution. Les régions comprises entre les asters et les chromosomes prennent une structure fibrillaire identique à celle du hyaloplasme de l'aster, tandis que la région équatoriale devient finement grumeleuse. Les limites entre ces régions ne sont pas nettement tranchées et, dans les zones où elles s'affrontent, on peut observer quelques fibrilles au milieu des amas denses aux électrons.

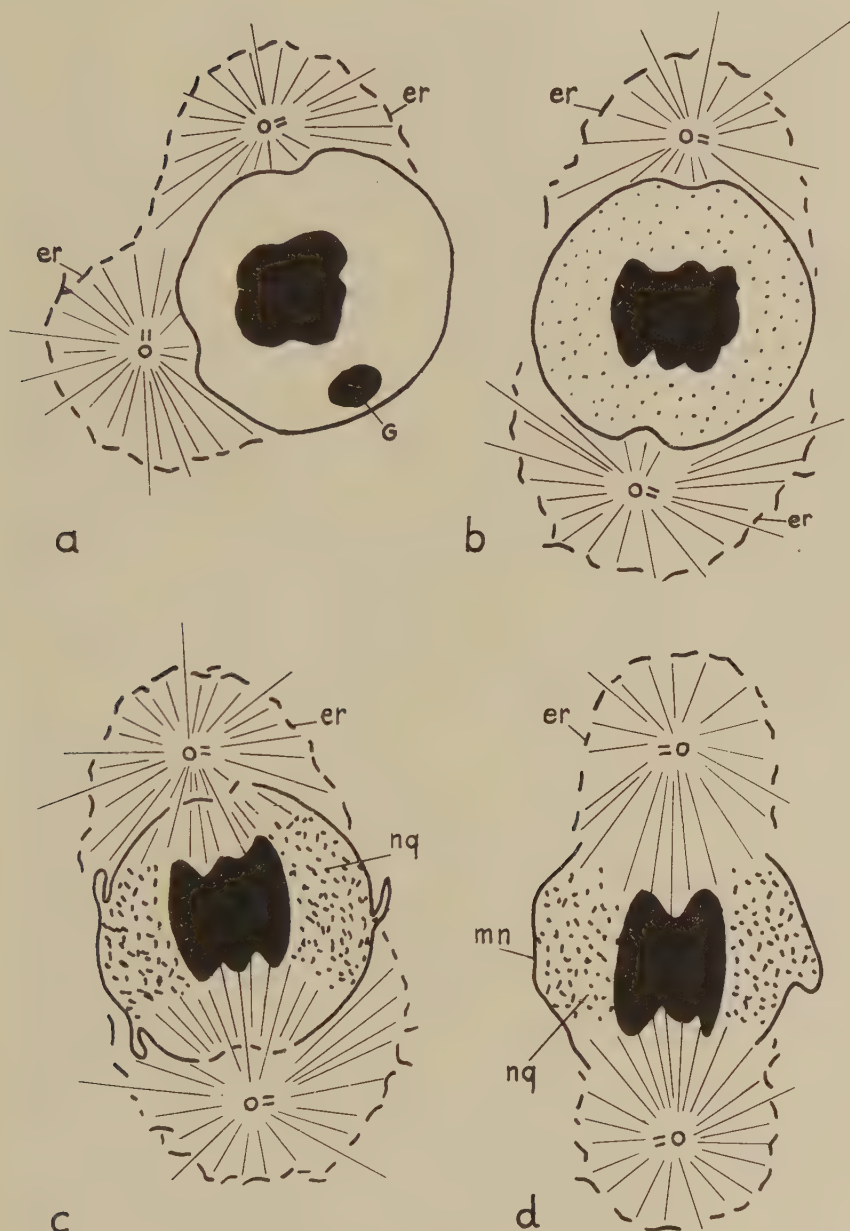


FIG. 5. — Formation du fuseau. *a* et *b*, mise en place des asters; la membrane nucléaire n'est pas encore rompue, mais elle est légèrement invaginée en face de chacun des asters. *G*, grain de sécrétion nucléolaire. *c* et *d*, au moment de la rupture de la membrane nucléaire (*mn*) se différencie le nucléoplasme équatorial (*nq*). En bordure du hyaloplasme astérien sont situées de petites vésicules ergastoplasmiques (*er*).

4° Discussion.

Les observations au microscope électronique de cellules en division ont été jusqu'ici peu nombreuses, aussi l'évolution des ultrastructures au cours de cette étape fondamentale de la vie cellulaire est-elle encore mal connue. Il faut souligner que le microscope électronique se prête mal à ce genre d'observation; les techniques d'ultramicrotomie permettent la réalisation de coupes dont la section mesure au maximum 1 mm², mais le treillis de la grille vient en diminuer la surface observable au microscope. Or, dans un tissu, les cellules en division sont le plus souvent très dispersées, si bien que pour une coupe ultra-mince les chances de rencontrer les images de mitose sont très faibles. Depuis les premiers travaux de BEAMS et coll. (1950), ROZSA et WYCKOFF (1950), SELBY (1953), certains matériaux plus favorables ont été particulièrement étudiés; les recherches récentes portent essentiellement sur des cultures cellulaires, des œufs en segmentation, des méristèmes radiculaires ou des testicules d'Orthoptères. Mais aucun de ces matériaux ne permet d'observer côte à côte un aussi grand nombre de cellules qui soient toutes au même stade de division, comme dans le cas du testicule de l'*Ascaris*. Pourtant, malgré de tels atouts, certaines étapes de l'évolution nous ont échappé jusqu'à maintenant et de nouvelles recherches devront être entreprises.

Nous n'avons pu observer, au stade précédant la diacinèse, le diplosome qui se voit pourtant si bien en fin de prophase. Cette lacune est fâcheuse, car le problème concernant l'origine de ces centrioles reste posé. Dans le cas des spermatocytes de l'*Ascaris*, les cytologistes de la « grande époque » ont donné des réponses contradictoires à cette question. Chez la variété bivalens, le centriole se trouverait toujours dans le cytoplasme, alors que chez la variété univalens, il commencerait par être situé dans le nucléoplasme puis, après s'être divisé, migrerait dans le hyaloplasme en traversant la membrane nucléaire (BRAUER, 1893; TRETJAKOFF, 1905; MAYER, 1908). Si nous n'avons jamais observé de centrioles dans le nucléoplasme de la variété univalens, nous ne les avons pas mieux vus avant la diacinèse dans le hyaloplasme de l'une ou l'autre variété. Mais on doit reconnaître qu'il faut beaucoup de chance pour remarquer, au milieu d'une cellule bourrée d'inclusions et dont le diamètre est de 25 à 30 μ , un centriole de 0,2 μ dont rien ne souligne la présence. Quand s'organise l'aster, la recherche des centrioles est beaucoup plus facile, car ils sont alors entourés d'archoplasme et situés au milieu d'une zone dépourvue d'organites.

La présence d'un archoplasme bien développé a rarement été signalée jusqu'ici en microscopie électronique (GRASSÉ et coll., 1956), mais il est vrai que les matériaux qui ont été examinés ne sont pas de ceux qui, au microscope optique, présentent cette différenciation

typique du hyaloplasme. De petites formations osmiophiles péricentriolaires ont cependant été décrites par BESSIS et coll. (1958) dans les leucocytes de Mammifères, où elles constituent de petites massues; ces dernières ont été retrouvées dans les cellules réticulaires de la rate (BERNHARD et DE HARVEN, 1958) et les cellules visuelles (TOKUYATSU et YAMADA, 1959). Les centrioles annulaires que l'on rencontre très fréquemment dans les spermatides et que SOTELO et TRUJILLO-CENOZ (1958 *b*) nomment « corps juxtanucléaires » sont probablement des différenciations hyaloplasmiques du même type. Chez l'*Ascaris*, la forte densité aux électrons que montre l'archoplasme après fixation osmique correspond, d'une part à la grande concentration des fibrilles astériennes qui convergent vers les centrioles, d'autre part à une osmiophilie marquée du hyaloplasme de cette région. Il est possible que cette osmiophilie soit due en partie à la présence de matériel RNP. A ce stade, en effet, les centrosomes sont fortement pyroninophiles, comme l'ont déjà souligné PASTEELS (1948) et PANIJEL (1951), et cette propriété disparaît après traitement par la RNase. D'autre part, la fixation au permanganate ne montre aucune différenciation autour du diplosome; on sait que cette fixation ne met pas en évidence le matériel RNP en lui donnant un contraste différent de celui du hyaloplasme. La forte densité de l'archoplasme après fixation osmique rend difficile son analyse ultrastructurale, et nous ne pouvons affirmer la présence certaine de particules RNP dans cette zone. Remarquons que l'existence de l'archoplasme coïncide avec l'apparition des fibrilles astériennes, on peut penser qu'il joue peut-être un rôle important dans l'organisation de ces structures.

La formation de l'aster débute, nous l'avons vu plus haut, par l'établissement, autour du centrosome, d'une région hyaloplasmique dépourvue d'organites. Ce phénomène n'est pas spécial à la spermatogenèse de l'*Ascaris* : les divisions de segmentation de ce même animal en sont un exemple bien connu des traités de cytologie (VAN BENEDEN, 1883; VAN BENEDEN et NEYT, 1887; BOVERI, 1888, 1900; CARNOY et LEBRUN, 1897; Traités de HENNEGUY, 1896; de PRENANT et coll., 1904; de WILSON, 1925). L'apparition de l'aster avant la rupture de la membrane nucléaire a également été décrite dans de nombreuses cellules en division de Vertébrés et surtout d'Invertébrés : spermatogonies de Salamandre (MEVES, 1897), œufs de *Thysanozoon* (VAN DER STRICHT, 1895 *a* et *b*) de *Zirphæa* et *Thalassema* (GRIFFIN, 1899), de *Rhynchelmis* (VEJDOVSKY et MZAREK, 1903), d'*Arion* (LAMS, 1910). Notons, à ce propos, que l'invagination de la membrane nucléaire en face des asters se voit très bien au microscope optique dans les exemples que nous venons de citer; à ce point de vue, l'*Ascaris* n'a rien d'exceptionnel. Ces observations anciennes sont bien souvent tombées dans l'oubli, mais elles retrouvent aujourd'hui un regain d'intérêt car, à la suite de l'école de MAZIA, on se penche à nouveau sur les problèmes de la division cellulaire.

Depuis les travaux de MAZIA et DAN (1952) chez l'Oursin, on sait

isoler l'appareil mitotique et on peut en faire l'analyse biochimique. Les derniers résultats obtenus par ZIMMERMAN (1960) montrent que l'appareil mitotique est constitué d'une protéine fibreuse dont le poids moléculaire est de 315 000 environ, et qu'il contient un peu d'ARN. Le problème qui se pose maintenant est celui de l'origine du matériel protéique fibrillaire de l'appareil mitotique; est-il d'origine cytoplasmique ou nucléaire ?

On peut admettre que les fibrilles observées au microscope électronique, au niveau des asters, représentent chez l'*Ascaris* une protéine fibreuse analogue à celle que MAZIA et son école ont isolée chez l'Oursin. Ces fibrilles apparaissent d'abord dans le hyaloplasme péri-centrosomien; ainsi se constitue dans le cytoplasme un aster, et par la suite un amphiaster, avant que la membrane nucléaire ne soit rompue. Chez l'*Ascaris*, les premières fibrilles se forment dans le cytoplasme, on peut parler à ce stade d'une origine cytoplasmique de l'appareil mitotique. Quant au rôle des centrosomes dans la polarisation des fibrilles, il reste énigmatique.

L'étude de cellules vivantes en division amène à des conclusions analogues chez certains organismes. Dans les spermatocytes d'Orthoptères, les observations en contraste de phase montrent que le fuseau apparaît d'abord dans le cytoplasme (KAWAMURA, 1955, 1957, 1960 a; SHIMAKURA, 1957). Dans les cellules de l'endosperme, BAJER (1954, 1957) a magnifiquement cinématographié les diverses phases de la division; la formation du fuseau débute par l'apparition d'une « zone claire » périnucléaire, dépourvue de granules cytoplasmiques (BAJER et MOLÉ-BAJER, 1956, 1960). Cette zone fortement biréfringente représente le composant cytoplasmique du fuseau mitotique (INOUE et BAJER, 1961). Il faut souligner que dans ce cas, il n'existe pas de centrosome.

Il est possible que les fibrilles astériennes se constituent à partir de précurseurs sécrétés par les chromosomes et traversant la membrane nucléaire; aucune de nos images ne nous permet de confirmer ou d'infirmer un tel mécanisme qui semble exister dans les cellules de l'endosperme (observations en microscopie interférentielle d'AMBROSE et BAJER, 1961, ainsi que celles de RICHARDS et BAJER, 1961). Il n'en est pas moins vrai que les fibrilles apparaissent d'abord dans le cytoplasme, mais toutes les fibrilles de l'appareil mitotique n'ont pas seulement une origine cytoplasmique.

En effet, au moment de la rupture de la membrane nucléaire, des fibrilles identiques aux fibrilles astériennes apparaissent dans le nucléoplasme. Ces fibrilles semblent se former d'abord contre les chromosomes puis s'allonger en direction des centrosomes. Les régions chromosomiques où s'attachent les fibrilles correspondent aux centromères qui se remarquent à leur forte densité aux électrons, comme cela a déjà été signalé sur d'autres matériels (BERNHARD et DE HARVEN, 1958; NEBEL, 1959; RUTHMANN, 1959). Les centromères semblent donc jouer un rôle important dans cette nouvelle phase de l'organisation

du fuseau; les observations en lumière polarisée de cellules vivantes (œufs en segmentation, endosperme) viennent à l'appui d'une telle hypothèse (SCHMIDT, 1939; INOUÉ, 1953; INOUÉ et BAJER, 1961).

Chez l'*Ascaris* mâle, nos observations montrent que les fibrilles de l'appareil mitotique ont une double origine : dans un premier temps, elles ont une origine cytoplasmique, dans un second temps, une origine nucléaire. MAKINO et coll. (1959) parviennent aux mêmes conclusions avec des spermatocytes de Sauterelles observés *in vitro*. Il est certain que cette double origine n'existe pas chez tous les organismes : chez certains Protozoaires en particulier, les fibrilles fusoriales sont entièrement d'origine nucléaire (ROTH et coll., 1960, chez l'Amibe; FAURÉ-FREMIET, 1961, chez *Nassulopsis*).

Les micrographies électroniques suggèrent que le matériel dense situé au niveau de l'archoplasme et des centromères intervient probablement dans l'organisation de l'appareil mitotique. Les très beaux résultats obtenus chez l'Oursin grâce aux techniques immunologiques (WENT, 1959 *a* et *b*, 1960) montrent que la formation du fuseau correspond à la réorganisation d'une protéine existant déjà dans la cellule, protéine qui, en se polymérisant, donne naissance à des fibres. En admettant ce point de vue pour l'*Ascaris*, cela signifie qu'en fin de prophase une protéine fusoriale est présente à la fois dans le hyaloplasme et le nucléoplasme. L'archoplasme et les centromères déclencheraient la polymérisation de cette protéine à leur niveau.

L'apparition des structures fibreuses du fuseau et des asters semble liée à la formation de ponts S—S à partir de groupements —SH, comme le suggérait déjà RAPKINE (1931); elle semble également liée à l'existence d'un équilibre dynamique entre ces groupements et ces ponts (MAZIA, 1955, 1958; MAZIA et ZIMMERMAN, 1958; ZIMMERMAN, 1960; ROTHSTEIN, 1959). Les études histochimiques de KAWAMURA et DAN (1958) et de N. KAWAMURA (1960) apportent la preuve que chez l'Oursin en segmentation, le centrosome et les asters sont riches en protéines —SH et en groupes S—S. Chez l'*Ascaris*, la réaction au DDD de BARNETT et SELIGMAN montre également une forte concentration de groupements —SH autour des centrosomes. La présence de ce matériel —SH, concentré autour des centrioles en fin de prophase, confirme sur notre matériel la valeur des hypothèses de RAPKINE (1931) et MAZIA (1955, 1958).

La rupture de la membrane nucléaire ne montre rien de nouveau par rapport à ce qui a été décrit chez d'autres cellules en spermatogenèse (MOSES, 1958 *c*) ou dans des cellules méristématiques (PORTER et MACHADO, 1960; WHALEY et coll., 1960). La seule particularité est que cette rupture commence en face des asters; les anciens auteurs l'avaient déjà observée en microscopie optique et ce comportement n'est pas spécial à l'*Ascaris* : WILSON (1925) en cite bien d'autres exemples. Les proliférations de la membrane nucléaire dans la région

équatoriale peuvent être comparées à la formation des piles de saccules que BARER et coll. (1960) ont signalée dans les spermatocytes d'Orthoptères. Notons enfin que les mitochondries ne sont jamais étroitement associées à la membrane nucléaire au moment de sa rupture, comme cela a déjà été décrit chez certaines cellules (BARER et coll., 1960; YASUZUMI, 1959).

Les phénomènes que nous venons de discuter aboutissent à la mise en place de l'appareil mitotique dont nous allons maintenant suivre l'évolution pendant la division.

B. — MÉTAPHASE

I. — APPAREIL MITOTIQUE

1° Centrosomes et asters.

A la métaphase, on distingue un centrosome à chacun des pôles du fuseau. Les deux centrosomes ont la même structure qu'à la fin de la prophase et on reconnaît, dans chacun d'eux, un archoplasme entourant deux centrioles (pl. 22). Les deux centrioles sont toujours disposés à peu près perpendiculairement, mais leur orientation par rapport à l'axe du fuseau varie selon les cellules. La disposition des diplosomes ne semble donc pas intervenir dans celle du fuseau.

La présence d'un diplosome à chacun des pôles est un fait assez général, autant qu'on puisse en juger d'après les quelques images de cellules en division qui ont été publiées (mitoses : DE HARVEN et BERNHARD, 1956; PORTER, 1957; YAMADA, 1958; méïoses : RUTHMANN, 1959). Cependant, même dans un matériel aussi riche que le testicule d'*Ascaris*, il est rare que les coupes passent exactement par les deux centrioles d'un même centrosome; aussi ne faut-il pas s'étonner que certains auteurs n'aient pu observer qu'un seul centriole au niveau des centrosomes du fuseau.

L'archoplasme montre encore une forte densité aux électrons après fixation osmique, mais ses limites sont moins nettes qu'à la fin de la prophase; en effet, la substance de l'archoplasme s'étend entre les fibrilles astériennes et fusoriales, si bien que le centrosome prend un aspect étoilé alors que jusque-là il était à peu près sphérique (pl. 24, fig. *a* et *b*).

Les fibrilles astériennes gardent la même disposition rayonnante; par contre, les vésicules ergastoplasmiques, qui, à la prophase, soulignaient les limites des asters, sont beaucoup moins développées et ont presque complètement disparu. Les mitochondries et les grains à bâtonnet les plus proches des régions polaires sont également disposés de façon rayonnante autour des asters (pl. 20, fig. *a* et pl. 22). Les fibrilles astériennes s'étendent en effet assez loin dans le hyaloplasme et imposent une orientation préférentielle à ces inclusions cytoplasmiques. Le grand axe des mitochondries est dirigé vers le centrosome, tout comme celui du bâtonnet des grains d'ascaridine; ce phénomène sera encore plus net lors de la seconde division de maturation (voir p. 109). Ainsi, à la métaphase, la structure fibreuse du hyaloplasme se prolonge bien au-delà de la zone dépourvue d'organites qui constitue l'aster proprement dit. Les fibrilles qui se trouvent entre les organites représentent-elles les prolongements de fibrilles astériennes formées au niveau de l'aster ou bien sont-elles apparues *de novo* dans le hyaloplasme périastérien ? Nous ne pouvons répondre. En admettant, avec l'école de MAZIA, que l'apparition des fibrilles corresponde à la polymérisation d'une protéine synthétisée avant la division, rien ne s'oppose à ce que cette polymérisation ait lieu dans le hyaloplasme périastérien; il suffit que la protéine ne soit pas totalement concentrée au niveau des asters mais qu'elle soit également diffuse autour de ceux-ci.

2° Fuseau achromatique.

Le fuseau achromatique est constitué de fibrilles bien visibles après coloration des coupes par l'acide phosphotungstique (pl. 24, fig. *a* et *b*). Ces fibrilles, qui sont exactement semblables morphologiquement aux fibrilles astériennes, convergent vers les centrosomes. De nombreuses fibrilles s'attachent au niveau des chromosomes et constituent des fibrilles chromosomiques (pl. 24, fig. *a* et *b*). La finesse des coupes ne permettant pas de suivre chaque fibrille sur toute sa longueur, on ne peut affirmer que toutes les fibrilles du fuseau sont de type chromosomique; il est possible qu'elles soient mélangées à des fibrilles astériennes n'allant pas jusqu'aux chromosomes.

Les fibrilles chromosomiques s'insèrent tout le long des bords des tétrades situés en face des centrosomes. Ce fait n'a rien de surprenant, car on sait que les chromosomes de l'*Ascaris* possèdent des centromères multiples (PAINTER et STONE, 1935; SCHRADER, 1935; WHITE, 1936; BARIGOZZI, 1947); chaque chromosome représente en fait un assemblage linéaire de nombreux petits chromosomes (« sammel » chromosomes). Il est probable, d'autre part, que l'on se trouve en présence de centromères diffus, comme cela a déjà été signalé en

microscopie optique chez certains Hémiptères et chez certaines Plantes (voir SCHRADER, 1953).

Remarquons que toutes les fibrilles du fuseau sont situées dans l'espace qui va des centrosomes aux tétrades; nous n'avons jamais observé de fibrilles continues allant d'un pôle à l'autre. D'autre part, les fibrilles astériennes n'atteignent pas la zone équatoriale formée par le nucléoplasme d'aspect tacheté que nous avons décrit au chapitre précédent.

La présence de fibrilles de 150 Å de diamètre a déjà été décrite dans des cellules en métaphase après fixation osmique (AMANO, 1957; KUROSUMI, 1957; KUROSUMI et coll., 1958; BERNHARD et DE HARVEN, 1958; ODOR et RENNIGER, 1960; ROTH et coll., 1960). Elles se voient également après fixation alcoolique (GROSS et coll., 1958) ou après fixation dans un mélange contenant du chlorure de cadmium (SATÔ, 1958; WADA et SATÔ, 1958). Nos micrographies montrent les mêmes structures chez l'*Ascaris*. Parfois, les fibrilles sont enchevêtrées et ne sont pas aussi bien orientées vers les pôles (pl. 23, fig. *a*); il est probable que ces aspects correspondent à des artefacts provoqués par des chocs mécaniques lors du prélèvement. Les observations au microscope polarisant d'œufs en segmentation ont en effet, montré l'extrême fragilité des structures fusoriales (INOÛ, 1959).

Entre les fibrilles du fuseau, comme entre celles de l'aster, on peut voir des granules RNP dispersés ou groupés en amas; ils sont cependant moins nombreux que dans le hyaloplasme. Histochimiquement, la présence d'ARN dans le fuseau a été signalée chez l'*Ascaris* par PASTEELS (1948) et PANIJEL (1951) et chez de nombreux autres organismes (voir la revue d'ensemble de SHIMAMURA et OTA, 1956). Biochimiquement, elle a été trouvée dans les appareils mitotiques isolés de l'Oursin (ZIMMERMAN, 1960). Au microscope électronique, quelques auteurs ont décrit des particules RNP dans le fuseau (KUROSUMI, 1957; GROSS et coll., 1958; GROSS, 1959). L'origine de ces particules est encore énigmatique. Certaines proviennent sans doute du cytoplasme, mais d'autres ont probablement une origine nucléaire et représentent peut-être les restes du matériel nucléolaire.

II. — CHROMOSOMES

A la métaphase, les chromosomes très condensés présentent une structure granuleuse qu'en l'état actuel de la technique il serait imprudent et prématuré de vouloir interpréter. A ce stade, les chromosomes semblent fortement tirés par les fibrilles chromosomiques, car ils sont plus ou moins allongés en direction des pôles (pl. 24, fig. *a* et *b*). Au niveau du plan équatorial, là où les deux masses chromosomiques se séparent, la substance des chromosomes apparaît souvent plus

dense aux électrons (pl. 24, fig. *a*), mais nous ne pouvons comprendre la signification d'un tel aspect.

Si, chez des animaux frais, la fixation osmique des chromosomes ne montre pas à leur niveau de structure nette, il n'en est pas de même chez les *Ascaris* en moins bon état. En effet, chez ceux qui ont séjourné 18 à 24 heures dans du sérum physiologique à 37° C, les chromosomes des spermatocytes I en métaphase ont une structure très curieuse qui mérite d'être examinée plus en détail.

A faible grandissement, on constate qu'une partie de la substance chromosomique est formée de lames denses aux électrons dont l'épaisseur est de 200 Å environ (pl. 25, fig. *a* et *b*). Ces lames sont en général parallèles les unes aux autres et suivent des ondulations plus ou moins compliquées. Toute la masse des tétrades ne présente pas cette ultrastructure lamellaire, certaines régions conservent un aspect granuleux identique à celui que l'on peut voir chez les animaux fixés à l'état frais.

A fort grossissement, chaque lame apparaît elle-même constituée de deux lames de 50 Å d'épaisseur, séparées par un espace clair de 110 Å environ (pl. 26, fig. *c*). Chacune des lames de 50 Å est formée d'une substance peu différente morphologiquement de la substance chromosomique granuleuse, si ce n'est que sa densité aux électrons est plus élevée. Les lames représentent en fait des différenciations locales de la substance chromosomique avec laquelle elles sont d'ailleurs en continuité (pl. 25, fig. *a* et *b*). L'apparition de ces lames aux bords des chromosomes donne souvent naissance à des lobes plus ou moins développés. Notons enfin que, comme à l'état frais, on ne reconnaît pas dans une tétrade les limites entre les chromosomes appariés.

Nous avons observé cette ultrastructure des chromosomes uniquement chez des *Ascaris* qui avaient été conservés plusieurs heures dans du sérum physiologique chaud. Bien que ces animaux soient encore très mobiles, ils n'en sont pas moins en mauvaises conditions comme le montrent l'aspect coagulé du hyaloplasme et l'absence de fibrilles au niveau du fuseau et des asters. Seuls, les mitochondries et les grains à bâtonnet sont encore assez bien conservés (pl. 26, fig. *a* et *b*). Il est certain que le séjour prolongé des *Ascaris* dans le sérum physiologique altère profondément leur métabolisme, les conditions d'anaérobiose en particulier n'étant plus respectées. Aussi, la structure que nous venons de décrire doit-elle être considérée comme une structure anormale du chromosome, apparue dans des conditions pathologiques.

Nous pouvons cependant essayer d'interpréter ce phénomène. Les contrôles histochimiques montrent que dans cet état les chromosomes sont encore nettement Feulgen positifs et que l'intensité de la coloration n'est pas différente de celle des animaux fraîchement fixés à l'état frais. On se trouve donc en présence d'un matériel DNP

dont la structure a été remaniée. Les lames parallèles évoquent celles des images myéliniques, d'autant plus que certaines sont refermées sur elles-mêmes et constituent des anneaux concentriques (pl. 25, fig. *b*). L'épaisseur des lames (50 Å) et leur distance (110 Å) sont plus grandes que celles des membranes cellulaires (« unit membrane » de ROBERTSON, 1959) ou des modèles fabriqués par STOECKENIUS (1959). On peut cependant supposer que cette réorganisation est due au démasquage de phospholipides au cours de la lente agonie des spermatocytes; on sait qu'au cours de ce processus, les phénomènes d'autolyse sont importants. L'origine des phospholipides est difficile à préciser. Ils peuvent provenir des chromosomes eux-mêmes : les études histochimiques récentes montrent que les chromosomes géants ou mitotiques sont riches en phospholipides (BROCK et coll., 1952; CHAYEN et coll., 1957, 1959; BERENBAUM, 1958; LA COUR et coll., 1958; IDELMANN, 1957, 1958 *a* et *b*; SERRA, 1958 *b*). Les analyses biochimiques ont d'autre part prouvé que les nucléohistones contiennent des lipides (CHAYEN et GAHAN, 1958; WILKINS et ZUBAY, 1959; HIRSCHBEIN, 1960). On peut aussi supposer que les phospholipides démasqués proviennent du cytoplasme; en effet, le remaniement de la substance chromosomique ne s'observe pas tant que la membrane nucléaire demeure intacte. Mais il se peut aussi que la membrane nucléaire empêche la diffusion de certains enzymes cytoplasmiques jusqu'aux chromosomes, et qu'ainsi le démasquage des phospholipides ne puisse se produire tant qu'elle subsiste.

Cette réorganisation lamellaire de la substance chromosomique rappelle ce qui se passe dans les noyaux de spermatides de Mollusques ou d'Orthoptères (GRASSÉ et coll., 1956; GIBBONS et BRADFIELD, 1957; YASUZUMI et ISHIDA, 1957; REBHUN, 1957; DASS et RIS, 1958, etc.). Bien que le rôle des lipides dans l'organisation structurale des chromosomes soit encore très mal connu, il est certain que celui-ci est très important.

Remarquons que dans les cellules en anaphase, ce sont les parties des chromosomes situées à l'opposé des pôles qui subissent en premier le remaniement structural (pl. 26, fig. *a* et *b*). Ces zones correspondent peut-être aux extrémités hétérochromatiques décrites dans les longs chromosomes des œufs en segmentation (GOLDSCHMIDT et LIN, 1947; PASTEELS, 1948; LIN, 1954). Les chromosomes méiotiques sont trop petits pour que l'on puisse distinguer au microscope optique des différences de colorabilité, aussi formulons-nous l'hypothèse précédente sous toutes réserves.

C. — ANAPHASE ET TÉLOPHASE

I. — APPAREIL MITOTIQUE

1° *Fibrilles interzonales.*

Nous avons décrit autour des chromosomes métaphasiques un anneau de nucléoplasme d'aspect tacheté que nous avons nommé le nucléoplasme équatorial (voir p. 90). Ce nucléoplasme, qui s'est différencié lors de la rupture de la membrane nucléaire, s'insinue entre les deux lots de chromosomes qui commencent leur ascension polaire (pl. 27, pl. 28 et pl. 29). Au début de l'anaphase, la figure de division est donc constituée par deux demi-fuseaux coniques entre les bases desquels s'est intercalé le nucléoplasme équatorial. En même temps que les chromosomes montent vers les pôles, ce nucléoplasme se transforme profondément.

On voit alors apparaître des faisceaux de fibrilles orientés parallèlement à l'axe du fuseau. Les fibrilles s'étendent entre les chromosomes anaphasiques et viennent parfois les toucher (pl. 27 et 28). Leur diamètre est de 150 Å et, après fixation osmique, seule leur périphérie est dense aux électrons, ce qui leur donne l'aspect de tubules (pl. 28 et 29). Dans la zone où nous observons ces structures fibreuses, c'est-à-dire entre les chromosomes en anaphase, la cytologie classique a mis en évidence, grâce au microscope optique, des fibres qui ont été appelées « filaments réunissants » ou « fibres interzonales ». Au microscope électronique, nous retrouvons une telle organisation, mais le pouvoir séparateur de cet appareil nous permet de distinguer un ensemble de fibrilles groupées en faisceaux. Pour conserver une nomenclature familière, nous appellerons ces fibrilles : les *fibrilles interzonales*.

Pendant que se forment les fibrilles interzonales, le nucléoplasme équatorial perd son aspect tacheté, à l'exception de certaines régions le plus souvent situées contre les chromosomes (pl. 28; pl. 29, fig. a). Dans ces régions, de petites vésicules ergastoplasmiques à grains RNP prennent parfois naissance au niveau des zones plus denses du nucléoplasme; entre les faisceaux de fibrilles, les grains RNP sont nombreux.

Les fibrilles interzonales apparaissent donc dans le nucléoplasme équatorial, mais nous n'avons pu préciser si le phénomène débutait

en certains endroits privilégiés, comme les amas denses ou le bord des chromosomes (fig. 6).

La formation de structures fibreuses entre les chromosomes, lors de l'anaphase de la première division, a été très bien décrite et représentée chez l'*Ascaris* mâle, par HERTWIG (1890) et BRAUER (1893). Ce dernier auteur avait également fort bien vu à la métaphase une zone dépourvue de grains à bâtonnet et de fibres fusoriales corres-

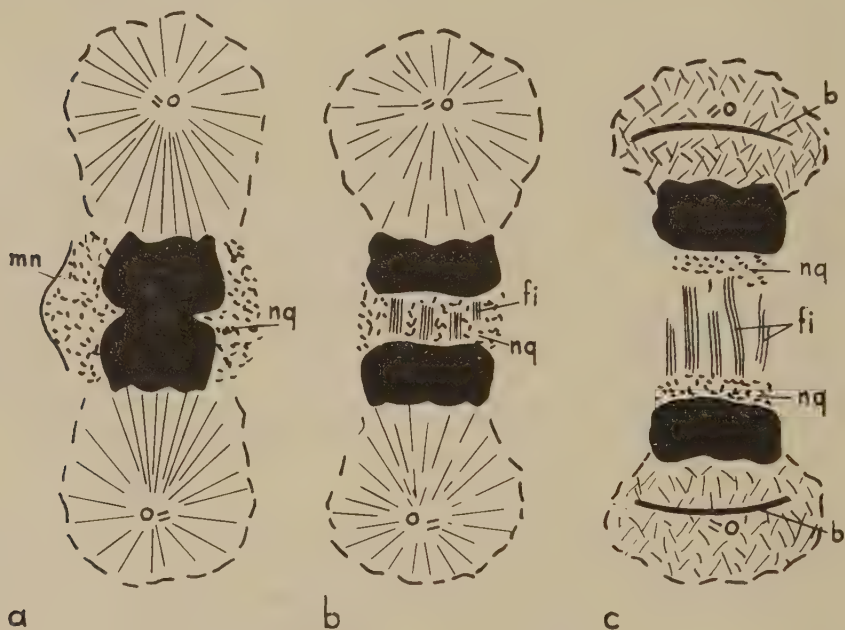


FIG. 6. — Formation des fibrilles interzonales. Pendant l'anaphase apparaissent dans le nucléoplasme équatorial (*nq*) des faisceaux de fibrilles interzonales (*fi*). Les fibrilles astériennes se désorganisent et il se forme une barre (*b*) dont l'origine est peut-être archoplasmique; *mn*, reste de la membrane nucléaire.

pondant à notre nucléoplasme équatorial. Si les structures interzonales ont été mises en évidence sur les cellules fixées appartenant à des espèces très variées, ce n'est que récemment que l'existence de ces structures a pu être démontrée sur le vivant. HUGHES et SCHWANN (1948) dans des fibroblastes, INOUÉ (1953) dans des œufs en segmentation, ont noté l'apparition d'une biréfringence dans la région interzonale. Dans les cellules de l'endosperme, cette biréfringence apparaît également au niveau du phragmoplaste en formation (BAJER et MOLÉ-BAJER, 1960; INOUÉ et BAJER, 1961). La structure et l'origine de ce matériel biréfringent sont encore mal connues, d'où les nombreuses hypothèses qui sont formulées.

Chez l'*Ascaris*, nos observations montrent qu'il existe des structures

orientées parallèlement à l'axe du fuseau dans la région interzonale des spermatocytes I. Les fibrilles interzonales que l'on voit au microscope électronique ont exactement la même ultrastructure que les fibrilles astériennes ou chromosomiques. Cette identité morphologique ne signifie pas forcément que les fibrilles interzonales ont la même constitution chimique que les autres fibrilles de la figure achromatique. Leur arrangement n'est tout d'abord pas le même : elles sont très rapprochées les unes des autres et constituent ainsi des faisceaux denses; les fibrilles chromosomiques astériennes ne sont pas aussi voisines et elles ont une disposition rayonnante autour des centrosomes. On sait, par des expériences de centrifugation (SCHRADER, 1934; SHIMAMURA, 1940), que les fibres de la région interzonale sont moins rigides que les fibres du fuseau et sont ainsi plus facilement distordues. Chez l'*Ascaris*, nous avons souvent observé des faisceaux de fibrilles interzonales présentant des ondulations (pl. 29, fig. b). Ce fait semble paradoxal, car les fibrilles interzonales formant des associations denses et homogènes, on pourrait s'attendre à plus de rigidité.

L'existence de structures fibreuses dans la région interzonale n'a été que rarement signalée au microscope électronique. Au cours de l'émission du globule polaire dans les ovocytes de Rat, ODOR et RENNINGER (1960) ont décrit, au niveau de la plaque cellulaire, des éléments orientés entre les chromosomes télophasiques; leurs micrographies ne leur permettent cependant pas de savoir s'il s'agit de tubules ou de lamelles.

L'origine des structures interzonales a fait naître des hypothèses variées dont deux surtout se partagent aujourd'hui les préférences des cytologistes. Pour certains, et HERMANN (1891) fut l'un des premiers, les fibres interzonales représentent les restes des fibres continues qui, à la métaphase, s'étendaient d'un pôle à l'autre. Dans le cas de l'*Ascaris* mâle, cette hypothèse ne peut être retenue, puisqu'à la métaphase il n'existe pas de fibres continues, le microscope optique l'avait déjà montré, le microscope électronique l'a confirmé. Pour d'autres, les fibres interzonales sont d'origine chromosomique et proviennent d'une pellicule qui enveloppait les chromosomes à la métaphase et qui s'étire à l'anaphase (SCHRADER, 1932, 1935, 1953; BECKER, 1933, 1935; CARLSON, 1952). Nos micrographies ne montrent rien de semblable : les fibrilles interzonales prenant naissance dans le nucléoplasme équatorial, nous parlerons donc d'une origine nucléoplasmique de ces fibrilles.

Il n'est pas impossible qu'au début de l'anaphase, du matériel venant des chromosomes s'ajoute au nucléoplasme équatorial et intervienne dans la formation des fibrilles interzonales. Chez les Végétaux supérieurs, les analyses histochimiques de JACOBSON et WEBB (1952) suggèrent que de l'ARN est sécrété par les chromosomes dans la

région du phragmoplaste. En microscopie UV, la région interzonale est très absorbante (DAVIES, 1952), et les observations en microscopie interférentielle montrent qu'il s'y fait une forte concentration de substances (RUSTAD, 1959) et que les chromosomes perdent de leur matière à l'anaphase (BAJER et MOLÉ-BAJER, 1960; AMBROSE et BAJER, 1961). Les nombreux granules RNP que l'on voit dans la région interzonale chez l'*Ascaris* proviennent peut-être d'une sécrétion d'ARN par les chromosomes, mais rien ne nous permet de penser que cette origine est plus probable qu'une simple origine nucléoplasmique. Des recherches devront être entreprises dans ce sens. Ainsi, la formation de structures fibrillaires au cours de la première division de maturation a lieu, d'une part en fin de prophase, d'autre part au commencement de l'anaphase. Dans la première phase, le matériel est d'origine cytoplasmique et nucléaire, dans la seconde, il est d'origine nucléaire seulement. Dans son ensemble, le nucléoplasme donne donc naissance à des fibrilles, mais le phénomène se passe en deux étapes et les fibrilles, bien que possédant la même ultrastructure, sont peut-être de nature différente.

2° Fuseau achromatique.

Durant l'anaphase et la télophase, les fibrilles chromosomiques et astériennes restent visibles, mais leur polarisation par les centrosomes diminue au cours de l'ascension polaire. Les fibrilles semblent alors se désorganiser, car elles deviennent beaucoup plus courtes et enchevêtrées (pl. 29; pl. 30, fig. *a* et *b*). Cette désorganisation du fuseau et des asters s'accompagne d'une diminution de l'importance de l'archoplasme autour des centrioles. La substance archoplasmique se disperse probablement dans le fuseau et les asters; on peut voir en effet, au milieu des restes de fibrilles, des amas d'une substance dont la densité est comparable à celle de l'archoplasme. Parfois, cette substance dense s'accumule en une lame située au milieu du fuseau anaphasique et contre laquelle les chromosomes viennent s'appuyer à la télophase (pl. 30, fig. *a* et *b*). Ces aspects rappellent ceux décrits par FÜRST (1898) dans les divisions ovogoniales de l'*Ascaris* et qui représentent un aplatissement de la substance archoplasmique.

L'étude des ultrastructures fusoriales et astériennes ne nous permet pas de comprendre le mouvement des chromosomes. Remarquons qu'en même temps que se désorganise le fuseau, se forment les fibrilles interzonales. Peut-être, comme le pensait BELĂR (1929), l'extension de la région interzonale contribue-t-elle à l'ascension polaire, mais cela reste encore à démontrer.

II. — CYTODIÉRÈSE

Pendant que se fait l'ascension polaire, la cytodierèse débute dans la région équatoriale du spermatocyte. Au niveau de la région interzonale, apparaît un sillon qui étrangle progressivement la cellule dans son plan équatorial. Cet étranglement ne se fait pas de façon symétrique par rapport à l'axe du fuseau. Un bord de la région équatoriale s'invagine légèrement, tandis que le bord opposé se creuse très profondément (pl. 27 et pl. 28; pl. 31, fig. *a*) et gagne peu à peu la région centrale. Au niveau du sillon profond, l'espace qui sépare les deux futurs spermatocytes de second ordre est très étroit, alors que dans la région opposée le sillon reste très échancré. Au cours de cet étranglement dissymétrique, les grains à bâtonnet et les mitochondries réoccupent peu à peu la région interzonale.

Les fibrilles interzonales se résorbent, mais parfois certaines ne disparaissent pas complètement. Il persiste alors un faisceau de fibrilles qui empêchent le sillon de division de progresser plus avant; dans ce cas, les spermatocytes II restent reliés par un pont cytoplasmique de $0,1\ \mu$ de large (pl. 31, fig. *a*). La persistance de ponts entre cellules a déjà été signalée par FAWCETT et BURGOS (1956) et FAWCETT (1959). Plus récemment, FAWCETT et coll. (1959), YASUZUMI et coll. (1960) ont vu la persistance de restes fusoriaux dans ces ponts, mais ils n'ont pas étudié les étapes précédant la formation de ces structures. Lorsque les fibrilles interzonales ont disparu, le sillon de division profond rejoint l'autre bord cellulaire et les deux cellules-filles se séparent.

Un point morphologique mérite de retenir notre attention : il s'agit de l'aspect de la surface cellulaire au cours de la cytodierèse. A la métaphase, la membrane du spermatocyte présente d'assez nombreuses villosités ayant l'apparence de poils dont le diamètre est de $0,01\ \mu$ et la longueur de $0,1\ \mu$ environ. Quand débute l'anaphase, la surface de la région équatoriale change d'aspect : les villosités allongées sont remplacées par des villosités trapues et pustuleuses dont le diamètre est de $0,03\ \mu$ environ (pl. 28; pl. 29, fig. *a*; fig. 7). Au niveau de ces dernières villosités se forme le sillon de division. Les pustules sont plus nombreuses dans la partie profonde du sillon que dans sa partie peu invaginée. Sur le reste de la surface cellulaire, les villosités sont toujours allongées, mais elles deviennent moins nombreuses. Quand la séparation des spermatocytes II est complète, les parties de la membrane cellulaire, qui se trouvent au niveau du sillon de division et se font vis-à-vis, se transforment très rapidement : les pustules disparaissent et il apparaît aussitôt un grand nombre de longues villosités (pl. 31, fig. *b*). A ce stade, le reste de la surface des cellules ne présente plus que de rares villosités.

La figure 7 résume l'évolution de la surface cellulaire au cours des phénomènes dont nous venons de parler.

Ces changements de l'état de la surface cellulaire traduisent des modifications importantes de l'état physique du hyaloplasme cortical. Nos observations montrent qu'il se forme une sorte d'anneau équatorial dont les propriétés de surface sont très modifiées par rapport au reste de la cellule. Les récentes expériences de micromanipulation faites par KAWAMURA (1960 *b*) ont fort bien démontré que dans les neuroblastes d'Orthoptères, l'orientation du fuseau à l'anaphase déter-

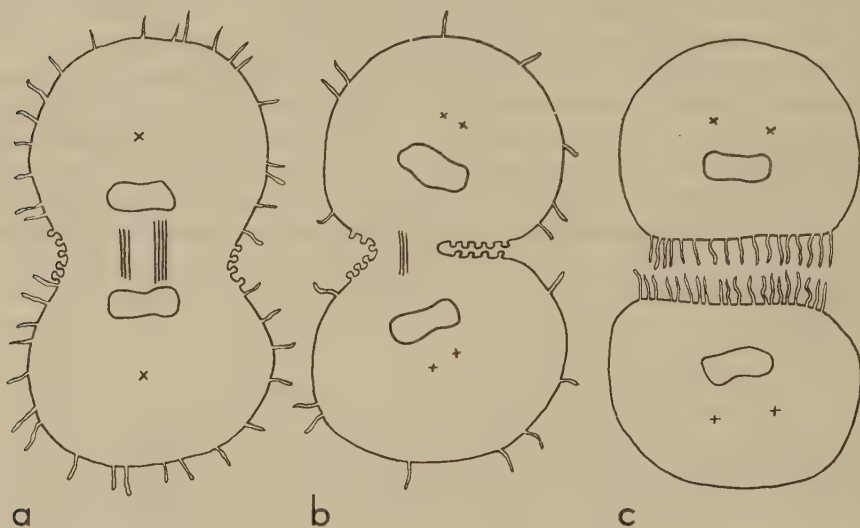


FIG. 7. — Schéma montrant l'évolution de la surface cellulaire au cours de la formation des spermatocytes II (voir les explications dans le texte).

mine la position du sillon de segmentation. HIRAMOTO (1956) était également parvenu à des conclusions analogues après avoir enlevé le fuseau dans l'œuf d'Oursin. KAWAMURA pense que la région interzonale intervient dans la formation du sillon. A la suite de ces résultats, la théorie de l'expansion active de la surface polaire (SWANN, 1952; MITCHISON, 1952) ne peut être conservée. Nos observations montrent que le cortex équatorial change de structure au moment de l'apparition de la région interzonale, et il est très possible que les deux phénomènes soient liés.

Ces transformations de l'ultrastructure du hyaloplasme cortical viennent à l'appui de l'hypothèse de MARSLAND (1956) sur l'apparition d'un anneau contractile, dans la région équatoriale, lors de la cytodierèse (MARSLAND et LANDAU, 1954). Il est possible que les asters interviennent également pour modifier l'état du cortex cellulaire, comme le pense WOLPERT (1960). Chez l'*Ascaris*, les fibrilles asté-

riennes s'étendent assez loin à la métaphase, et au cours de l'anaphase et de la télophase, les modifications de la structure des asters entraînent peut-être des changements dans l'état de la surface des spermatocytes. Nous avons vu en effet qu'au cours de l'ascension polaire, les longues villosités deviennent moins nombreuses. Notons enfin que la séparation des cellules s'accompagne d'une transformation brutale du cortex au niveau de l'ancien sillon. L'apparition des très nombreuses villosités allongées dans cette région traduit certainement un changement très important de l'état physique du hyaloplasme après la séparation des spermatocytes II.

La cytodiérèse, telle que nous l'avons décrite dans les spermatocytes de l'*Ascaris*, est un phénomène où seul le hyaloplasme cortical des cellules semble intervenir.

Il conviendrait également de savoir si la concentration en ATP de cette région corticale est plus élevée que celle du reste de la cellule, comme cela a été suggéré pour expliquer les processus biochimiques de la séparation cellulaire (voir WOLPERT, 1960).

Nous n'avons jamais vu se former de vacuoles donnant naissance à une plaque cellulaire, comme cela s'observe lors de l'émission des globules polaires chez le Rat (ODOR et RENNINGER, 1960) ou lors de la formation du phragmoplaste (BUVAT et PUISSANT, 1958; PORTER et CAULFIELD, 1958; PORTER et MACHADO, 1960; WHALEY et coll., 1960). Nous n'avons pas vu non plus apparaître dans la zone équatoriale des tubules sous-corticaux, comme MERCER et WOLPERT (1958) l'ont décrit chez l'Oursin.

V. — SECONDE DIVISION DE MATURATION

La seconde division de maturation qui suit immédiatement la première est un phénomène très rapide; la prophase en est réduite et les autres étapes de la division se succèdent très vite et même se chevauchent. Nous insisterons peu sur cette étape de la spermatogénèse car, en ce qui concerne les ultrastructures et leur évolution, il existe peu de différences par rapport à ce que nous avons décrit au cours de la première division de maturation. Peu de documents ont été apportés jusqu'ici par le microscope électronique dans l'étude de cette phase de la méiose; seuls RUTHMANN (1959), YASUZUMI et coll. (1961) en ont donné quelques images dans la spermatogénèse de certaines Ecrevisses.

Après la cytodièrese, la partie centrale des spermatocytes II est occupée par une zone hyaloplasmique dépourvue d'organites de grande dimension. Cette zone correspond au reste de l'aster et du fuseau. Les fibrilles sont alors désorganisées et on reconnaît au milieu un centrosome entouré d'un peu d'archoplasme. Les chromosomes sont situés en bordure de cette région; contre la partie chromosomique qui est tournée vers l'extérieur de la cellule, il existe souvent une mince bande de substance provenant du reliquat de nucléoplasme équatorial. On y distingue en effet les amas denses aux électrons. Cette description vaut également lorsque la cytodièrese est incomplète et que les spermatocytes restent unis par un pont cytoplasmique (pl. 31, fig. a).

La prophase de la seconde division est réduite au déboulement du centrosome et à l'organisation d'un nouveau fuseau de division. Nous n'avons malheureusement pas pu suivre le déboulement lui-même, mais nous avons obtenu des micrographies très peu postérieures au phénomène. Les deux centrosomes-fils sont alors souvent reliés l'un à l'autre par un pont d'archoplasme qui forme ainsi une *centrodesmose* (pl. 30, fig. c). Mais il ne s'agit pas d'une *centrodesmose* au sens où l'entendait HEIDENHAIN (1894), car on n'y observe point de fibrilles fusoriales. Quand les centrosomes s'éloignent l'un de l'autre, la *centrodesmose* archoplasmique disparaît. Les centrosomes-fils possèdent toujours deux centrioles et, sur ce point, il n'y a donc pas de différence entre la première et la seconde division de maturation. Chez l'écrevisse *Cambarus virilis*, RUTHMANN (1959) n'a observé qu'un seul centriole à la seconde division, alors qu'il en voit

deux à la première. Il est possible que cette différence ne soit due en fait qu'à une orientation défavorable de ses coupes.

Lorsque les centrosomes sont diamétralement opposés, les chromosomes sont bordés par le hyaloplasme qui correspond à l'ancien aster et à l'ancien fuseau d'où les fibrilles ont disparu. Les fibrilles astériennes et chromosomiques se forment à nouveau au sein de ce hyaloplasme et ainsi s'établit la nouvelle figure achromatique. Les fibrilles ont exactement la même structure qu'à la première division et leur mode d'apparition est identique. La polarisation des organites par les asters est encore mieux marquée : les mitochondries qui sont presque toutes en bordure de l'aster ont leur grand axe dirigé vers le centrosome. Après cette sorte d'anneau mitochondrial, on trouve, plus à l'extérieur, les grains d'ascaridine dont le bâtonnet est lui-même polarisé très fortement par le centrosome (pl. 32, pl. 33, pl. 34 et 35). Les grains à bâtonnet ont alors une forme oblongue, ce qui montre leur plasticité. Cette polarisation des organites est probablement due à la présence de fibrilles astériennes qui s'étendent assez loin en direction du bord de la cellule. Elles donnent au hyaloplasme une certaine rigidité et provoquent ainsi l'orientation et la déformation des organites. Entre les fibrilles astériennes et chromosomiques, on voit très peu de grains RNP, ce qui explique la très faible basophilie de cette région (PASTEELS, 1948; PANIJEL, 1951).

Au moment de leur séparation, les chromosomes sont très plastiques, car ils présentent des prolongements en direction des centrosomes, comme s'ils étaient fortement tirés par les fibrilles chromosomiques (pl. 32, fig. *a*). D'autre part, après s'être séparés au début de l'anaphase, ils laissent derrière eux des traînées plus ou moins développées (pl. 32, fig. *b*).

Tandis que les chromosomes se séparent, la région interzonale montre des amas denses comparables à ceux du nucléoplasme équatorial de la première division. L'origine de ce matériel interzonal est difficile à préciser; s'agit-il du nucléoplasme équatorial qui persiste à l'arrière des chromosomes lors de la première télophase ? mais on ne l'observe pas toujours dans les jeunes spermatocytes II; provient-il du hyaloplasme auquel viendrait s'ajouter du matériel d'origine chromosomique ? nous ne pouvons trancher entre ces hypothèses. Quoi qu'il en soit, la région interzonale présente une structure analogue à celle de la première division, mais il ne s'y forme pas de fibrilles (pl. 32, fig. *a* et *b*). Certains cytologistes comme BRAUER (1893) ont représenté des fibres entre les chromosomes de ce stade, nous n'en avons jamais observé au microscope électronique. Cette absence de fibrilles interzonales à la seconde division est au fond la seule différence importante que nous ayons à signaler en comparaison de la première.

La cytodiérèse s'accompagne de modifications de la surface cellulaire, qui sont du même type que celles décrites au chapitre pré-

cèdent. Elles débutent dès la fin de la métaphase, avant même que les chromosomes soient complètement séparés. La dissymétrie du sillon de division est souvent moins accentuée, mais on trouve parfois des exceptions (pl. 32, fig. *b*). Les villosités sont nombreuses au niveau du sillon, alors qu'elles sont très rares sur le reste de la cellule; elles sont en général moins trapues qu'au moment de la séparation des spermatocytes II. Quand les spermatides s'isolent l'une de l'autre, un grand nombre de villosités allongées se forme au niveau de l'ancien sillon (pl. 34). Parfois, les deux spermatides demeurent reliées par un pont cytoplasmique; c'est au niveau de ce pont que seront éliminés les cytophores au cours de la spermio-genèse (voir plus loin, p. 113).

Notons enfin que pendant la cytodiérèse, les petits dictyosomes se séparent des grains à bâtonnet et viennent se placer au niveau du cytoplasme cortical (pl. 34). Seuls les gros saccules golgiens restent attachés aux grains à bâtonnet; ils ne s'en sépareront que plus tard au cours de la spermio-genèse (voir plus loin, p. 117).

VI. — SPERMIOGENÈSE

A. — PHÉNOMÈNES CYTOPLASMIQUES

I. — ÉVOLUTION DE L'ERGASTOPLASME

1° *Formation du disque cytophoral.*

A la métaphase de la seconde division de maturation, en même temps que débute la cytodiérèse, un système de membranes apparaît dans le cytoplasme cortical des jeunes spermatides. Ces membranes délimitent de petites vésicules aplaties ou des tubules dont certains sont anastomosés (pl. 34). Le hyaloplasme où se forment ces membranes est tout à fait comparable à celui du reste de la cellule, et la densité des grains RNP y est faible. Les membranes qui viennent d'apparaître ne sont jamais associées à ces grains; ainsi, en périphérie de la jeune spermatide, s'édifie un réticulum endoplasmique agranulaire typique.

Lorsque la cytodiérèse est achevée et que les chromosomes se tassent au centre de la cellule, le réticulum poursuit son développement et se transforme progressivement en un système ordonné de lames parallèles ou parfois concentriques (pl. 35, fig. *b*). Entre les lames qui délimitent toujours des cavités aplaties, le hyaloplasme devient de plus en plus riche en grains RNP. La densité des grains devient suffisamment importante pour donner au cortex de la spermatide un aspect beaucoup plus sombre après fixation osmique (pl. 36, fig. *b*). Le contraste est d'autant plus accentué que les grains RNP ont en même temps disparu du reste du hyaloplasme. Puis, lames et grains se concentrent à un des hémisphères de la cellule et certains des grains sont maintenant associés aux membranes des vésicules (pl. 36, fig. *a* et *b*). Nous sommes donc passé progressivement de la structure d'un réticulum endoplasmique agranulaire à celle d'un ergastoplasme granulaire.

La différenciation de cet ergastoplasme en périphérie de la spermatide est la traduction morphologique moderne de la formation du *disque cytophoral* de VAN BENEDEN et JULIN (1884). Ces observateurs avaient déjà fort bien remarqué qu'à ce stade, un des hémisphères de la spermatide prend vivement le carmin. Par la suite, d'autres

particularités tinctoriales du disque cytophoral furent signalées, mais ce n'est que par les travaux de PANIJEL (1947 *a* et *b*) et de PASTEELS (1948) que l'on comprend aujourd'hui la signification cytochimique du phénomène. Utilisant le test de Brachet, avec contrôle à la ribonucléase, ces auteurs ont montré une accumulation de matériel RNP au niveau du disque cytophoral, en même temps que disparaît toute trace de basophilie du reste de la cellule.

Nos observations au microscope électronique concordent parfaitement avec ces résultats, puisque tous les grains RNP de la spermatide se trouvent concentrés dans le disque. Elles montrent de plus, que cette accumulation du matériel basophile s'accompagne de l'organisation progressive d'un ergastoplasme typique, avec ses grains et ses membranes.

Tout comme au moment de la sécrétion de l'ascaridine à la prophase de la première division, nous voyons s'édifier des structures ergastoplasmiques. Mais, à la différence du phénomène précédent, ce sont les membranes qui apparaissent avant les granules. Dans la plupart des circonstances où l'on a pu suivre la différenciation de telles structures, on a noté la présence de grains RNP avant que ne se forment les membranes (voir la discussion précédente, p. 68). Toutefois, au cours de la régénération du foie par exemple, les membranes apparaissent en premier (BERNHARD et ROUILLER, 1956). Dans un cas comme dans l'autre, l'association des deux constituants de l'ergastoplasme, les membranes et les grains RNP, ne se fait que secondairement.

Les vésicules ergastoplasmiques de grande dimension prennent naissance à partir des petits éléments du réticulum endoplasmique dont les vésicules et les tubules se fusionnent. Mais l'origine des membranes du réticulum reste mystérieuse. Comme elles apparaissent dans la région corticale de la spermatide, on peut se demander si elles ne proviennent pas d'invaginations de la membrane cellulaire, en relation avec des phénomènes de pinocytose; de telles hypothèses ont été formulées par de nombreux auteurs, mais elles demandent encore à être confirmées (BENNETT, 1956; PALADE, 1958; ROBERTSON, 1959; SIEKEVITZ, 1959 *a*; PALAY et KARLIN, 1959). Dans une telle perspective, les membranes d'abord agranulaires acquièrent secondairement des grains RNP. Un mécanisme de ce type pourrait expliquer l'apparition du réticulum dans le cortex de la spermatide, mais nous n'avons jamais pu observer des invaginations de la membrane; il nous semble plus probable que les membranes du réticulum apparaissent *de novo*.

L'accumulation des grains RNP au niveau du disque cytophoral ne semble pas provenir de la migration des grains qui se trouvent au milieu de la cellule. Entre les grains à bâtonnet et les mitochondries qui sont encore très polarisées à ce stade, on ne voit pas de traînées de grains RNP laissant supposer des mouvements de ce matériel figuré. Les grains, qui sont dispersés dans la masse du

hyaloplasme central, disparaissent sans doute sur place, tandis que d'autres se reconstituent au niveau du disque. Le matériel RNP migre probablement sous une forme non visible au microscope électronique; il y a peut-être solubilisation puis condensation en périphérie.

2° *Elimination du cytophore.*

Pendant que se différencie l'ergastoplasme du disque cytophoral, les propriétés de la surface cellulaire de cette région se modifient. De nombreuses villosités allongées apparaissent à la surface du

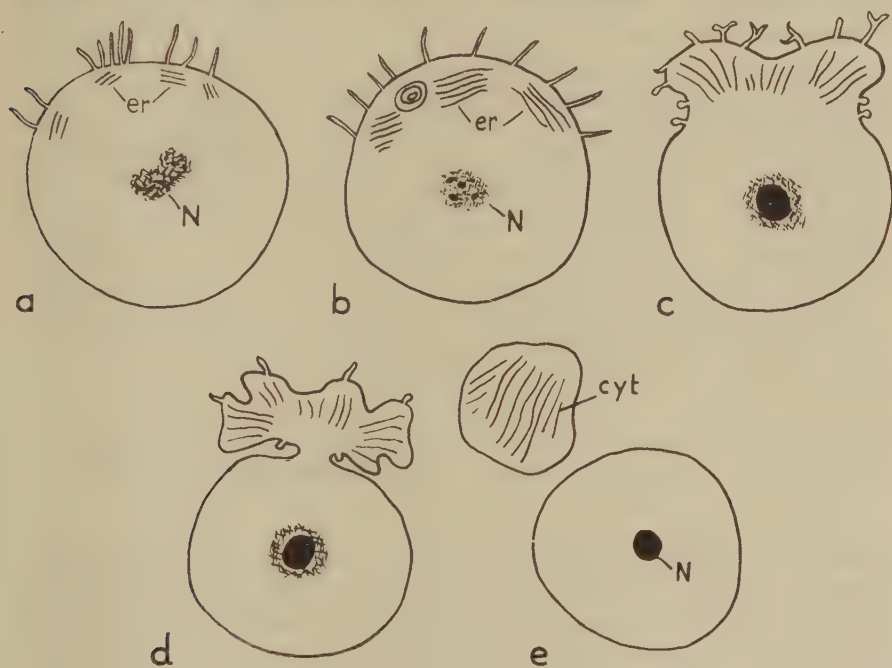


FIG. 8. — Schéma montrant l'évolution de la surface cellulaire au cours de la formation du cytophore (*cyt*); *er*, ergastoplasme; *N*, noyau (voir explications dans le texte).

disque, alors que l'autre hémisphère de la spermatide en est complètement dépourvu (pl. 36, fig. b). Les villosités qui n'existaient jusqu'ici que dans la zone de cytodiérèse s'étendent maintenant sur tout le disque cytophoral. Puis elles deviennent plus massives, certaines se transforment en petits pseudopodes ramifiés, tandis que le disque commence à faire saillie à la surface de la spermatide. Il se fait ensuite un étranglement et l'ensemble de l'ergastoplasme est expulsé dans une masse cytoplasmique bilobée qui représente

le cytophore des auteurs classiques (pl. 37, fig. *a* et *b*). Cette expulsion a même pu être observée *in vivo* par TRETJAKOFF (1905).

Le cytophore reste relié à la spermatide par un fin pont cytoplasmique (pl. 37, fig. *b*), avant de s'en détacher complètement. Dès que le cytophore est libre dans la lumière du testicule, ses villosités disparaissent et il prend une forme globuleuse (pl. 38, fig. *a* et *b*; voir également le schéma de la figure 8).

Durant l'élimination du cytophore, la lumière des vésicules ergastoplasmiques devient plus large, et certaines vésicules entrent en communication par des canaux entre lesquels se trouvent isolées des portions de cytoplasme (pl. 38, fig. *a*). Cette évolution de l'ergastoplasme se poursuit après le rejet du cytophore et on assiste à une dégénérescence des structures. Les travées hyaloplasmiques situées

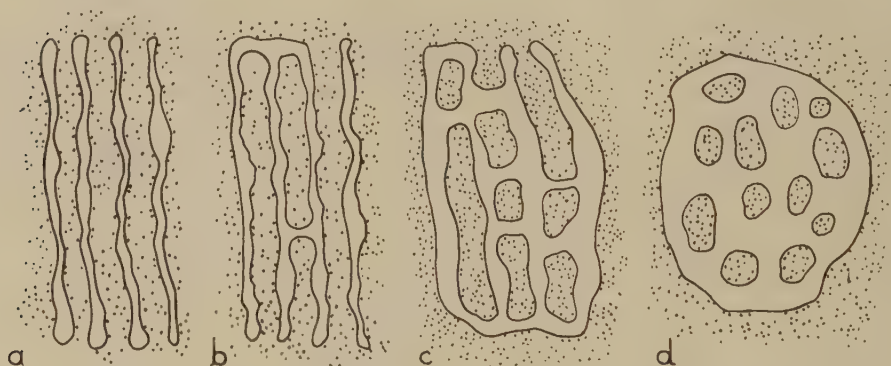


FIG. 9. — Schéma montrant la fusion des cavités ergastoplasmiques en une seule cavité contenant des boules de hyaloplasme remplies de grains RNP.

entre les vésicules de l'ergastoplasme se fragmentent en petites boules remplies de grains RNP. Ces boules s'isolent à l'intérieur de vésicules plus vastes qui constituent des sortes de vacuoles (pl. 38, fig. *b*). Cette fragmentation en boules de l'ergastoplasme rappelle celle obtenue par SIEKEVITZ et PALADE (1958 *a*) dans la fraction microsomienne du pancréas de Cobaye; mais dans notre cas, les grains RNP sont à l'intérieur de sphères de hyaloplasme qui baignent dans une cavité ergastoplasmique remplie de substance intra-ergastoplasmique (fig. 9). Dans le pancréas, au contraire, les grains RNP sont collés à l'extérieur de sphères qui renferment la substance intra-ergastoplasmique.

L'élimination du cytophore correspond au rejet par la spermatide de tout son matériel RNP (PASTEELS, 1948; PANIJEL, 1951) et nous avons déjà insisté sur l'évolution des ultrastructures durant cette étape de la spermiogenèse (FAVARD, 1959). En général, la disparition du matériel RNP au cours de la différenciation des spermatides ne s'accompagne pas d'une ségrégation aussi précise des organites

cytoplasmiques; cette perte se fait au cours de l'élimination du cytoplasme résiduel et il ne s'édifie pas de nouvelles structures comme dans le cas de l'*Ascaris*. Il serait intéressant de savoir si l'ARN qui est éliminé dans le cytophore est encore métaboliquement actif, ou s'il ne présente qu'une très faible activité, voire même aucune, comme cela a été montré par autoradiographie pour l'ARN des spermatides de certains Vertébrés (PELC, 1957; MARTIN et BRACHET, 1959; BRACHET, 1960).

La perte de matériel RNP par rejet d'un fragment de cytoplasme basophile a été signalée par THIÉRY (1959) chez les plasmocytes. Il a suivi, au microscope à contraste de phase, ce phénomène déjà décrit sous le nom de clasmatose et en a publié des micrographies électroniques; le lobe cytoplasmique rejeté par le plasmocyte contient un ergastoplasme typique à membranes et grains. Dans des cultures de tissus, HAGUENAU (1960) a observé un phénomène analogue, mais seuls des grains RNP sans membranes associées sont éliminés. FAUTREZ-FIRLEFYN (1949, 1955) a également décrit le départ d'un lobe de cytoplasme basophile au début de la spermatogenèse d'*Artemia salina*; il serait intéressant de refaire une telle observation au microscope électronique pour la comparer à l'*Ascaris*.

Nous avons vu, durant la cytodiérèse de seconde division, les petits dictyosomes des grains à bâtonnet se séparer de ceux-ci et venir se placer en périphérie de la spermatide (voir p. 110). Pendant la formation du disque cytophoral, ces dictyosomes se rassemblent dans cette région et demeurent toujours près de la surface (pl. 34 et pl. 37, fig. d). Ils sont éliminés avec le matériel basophile lors du rejet du cytophore (pl. 38, fig. a). L'élimination du cytophore correspond donc non seulement au rejet du matériel RNP qui en est le constituant le plus abondant, mais encore au rejet du matériel golgien, à l'exception des grands saccules qui coiffent les bâtonnets.

La présence de villosités à la surface du disque cytophoral et leur évolution au cours de la formation du cytophore montrent qu'il existe de grandes différences entre l'état physique du hyaloplasme de la région cytophorale et celui du reste de la spermatide. Ces différences s'accompagnent de variations de tension superficielle qui contribuent sans doute, pour une large part, à la séparation du cytophore. Comme pour les cytodiérèses, un étranglement se fait entre une région à nombreuses villosités et une qui n'en possède que peu ou point. Là encore, il conviendrait de savoir si les concentrations en ATP des régions corticales sont différentes d'une zone à l'autre.

Parfois, la masse cytophorale entraîne avec elle quelques grains à bâtonnet, ce qui indique que la ségrégation du matériel n'est pas toujours très précise. Remarquons que le disque cytophoral se forme dans la zone cytoplasmique où s'est creusé le sillon de division au cours de la seconde cytodiérèse. La région interzonale semble donc polariser les phénomènes cytoplasmiques, puisque dictyosomes et matériel RNP viennent s'y rassembler.

Pour terminer cette discussion, nous soulignerons qu'au cours de la différenciation du cytophore, nous voyons s'élaborer divers types de structures ergastoplasmiques. Ces divers types se rencontrent en général, isolés ou côte à côte, dans des catégories cellulaires variées; ici, nous assistons au passage continu dans le temps d'une forme agranulaire de type réticulum à une forme à grains et membranes qui se désorganise par la suite.

3° *Phagocytose des cytophores.*

Le matériel RNP qui est éliminé des spermatides n'est pas perdu pour l'organisme, puisque les cytophores sont phagocytés peu après leur élimination par les cellules de la paroi testiculaire. Ce phénomène, bien vu par VAN BENEDEN et JULIN (1884), a souvent été redécrit et discuté (MARCUS, 1906 *b*; MAYER, 1908; ROMIEU, 1911; VON KEMNITZ, 1912; FAURÉ-FREMIET, 1913). Bien que nous n'ayons pas pu observer les premières phases de la capture des cytophores, nous avons cependant suivi l'évolution des ultrastructures pendant la phagocytose.

D'abord situé à l'intérieur d'une grande vacuole, le cytophore prend une structure homogène. Les larges cavités ergastoplasmiques qui contenaient les boules remplies de grains RNP n'existent plus, et l'intérieur du cytophore montre un aspect granuleux peu différencié (pl. 39, fig. *a*). Seuls sont encore reconnaissables les petits dictyosomes, mais les grains RNP ne sont plus aussi visibles et sont souvent agglomérés les uns aux autres (pl. 39, fig. *b*). Puis de nouvelles membranes s'organisent, délimitant des vésicules de tailles très variées à contenu clair. La matrice granuleuse du cytophore, qui renfermait les dictyosomes et les grains, disparaît à mesure que se forment les membranes (pl. 39, fig. *b*).

La grande vacuole renfermant le cytophore se fragmente alors en vacuoles plus petites, de 1 à 1,5 μ de diamètre. L'intérieur de ces vacuoles se sépare en deux phases : d'un côté, une phase très claire, presque homogène, à l'exception de petits grumeaux plus denses aux électrons; de l'autre, une phase à prédominance phospholipidique où apparaissent des membranes nombreuses qui délimitent des vésicules (pl. 39, fig. *e*). A un stade plus avancé de la phagocytose, la phase phospholipidique donne naissance à des structures myéliniques typiques (pl. 39, fig. *d*). Remarquons qu'en bordure des vacuoles de phagocytose, le cytoplasme des cellules de la paroi testiculaire est très riche en lames ergastoplasmiques.

La formation de structures myéliniques montre qu'il y a démasquage de phospholipides au cours de la phagocytose; on assiste donc à une véritable lipophanérose. Celle-ci n'est que progressive, puisque avant l'apparition des images myéliniques, on observe d'abord la formation de membranes de plus en plus nombreuses. Le démasquage des phospholipides au cours de la phagocytose semble un phénomène

très général, on a décrit des formations myéliniques dans des macrophages de la moelle osseuse (POLICARD et coll., 1957), de la rate (STOECKENIUS, 1957), du poumon (POLICARD et coll., 1958; KARER, 1958, 1960) ou dans les cellules phagocytaires du Grillon (BERKALOFF, 1961).

II. — FORMATION DU CÔNE RÉFRINGENT

Pendant que le cytophore est phagocyté par les cellules de la paroi testiculaire, les mitochondries et les grains à bâtonnet se transforment; après l'élimination de l'ergastoplasme, c'est au tour des autres organites cytoplasmiques de la spermatide de se modifier.

Les mitochondries, qui sont toujours groupées autour du noyau, changent de forme. Alors qu'elles étaient allongées et que leur matrice présentait une forte densité aux électrons après fixation osmique (pl. 34 à 37), elles deviennent globuleuses et leur matrice apparaît beaucoup plus claire (pl. 40, fig. *a*). Leur diamètre est de 1 μ environ après fixation osmique, de 1,3 μ après fixation au permanganate (pl. 40, fig. *b*); ce gonflement des mitochondries est d'ailleurs un phénomène très général quand on utilise ce dernier fixateur.

L'évolution des grains à bâtonnet mérite plus d'attention. On se souvient de leur structure complexe (voir plus haut, p. 75) due à l'association de plusieurs constituants : depuis la prophase, ils sont formés d'un granule d'ascaridine recouvert d'un chapeau golgien entre lesquels se trouve coincé un bâtonnet protéique peu contrasté. A la fin de la seconde division de maturation, nous avons vu le petit dictyosome qui était associé à chaque grain à bâtonnet se séparer de celui-ci et se porter en périphérie de la spermatide. Les dictyosomes étant éliminés dans le cytophore, seul persiste le grand saccule qui forme le chapeau du grain. On assiste maintenant à la dissociation des divers constituants. Le chapeau golgien se sépare du granule d'ascaridine, et ses bords aplatis se replient sur la région centrale qui est toujours remplie d'une substance lipoïdique à structure myélinique. Après avoir perdu leur constituant golgien, les granules d'ascaridine perdent leur bâtonnet protéique et prennent une forme sphérique (pl. 40, fig. *a*). La substance des bâtonnets se condense alors dans le hyaloplasme de la spermatide pour donner de longues tiges fibreuses (pl. 40, fig. *b*). A ce stade, on trouve dispersés, à l'extérieur de la couronne de mitochondries globuleuses, des granules d'ascaridine, des chapeaux golgiens et des tiges fibreuses qui pénètrent parfois entre les mitochondries (pl. 41, fig. *c*).

La séparation des divers constituants des grains à bâtonnet étant achevée, les granules d'ascaridine commencent à se fusionner les uns aux autres, donnant naissance à des granules de plus en plus gros. Tant que les spermatides demeurent dans le testicule, les granules ne dépassent pas 2 à 3 μ de diamètre. Ce sont des granules de cette

taille que l'on trouve en périphérie des spermatides de la vésicule séminale (pl. 41, fig. *b*). La fusion des granules d'ascaridine se poursuit dans les voies génitales femelles. Comme le suppose FAURÉ-FREMIET (1913), il est très probable que la copulation se fait avec des femelles non parvenues à maturité, puisque l'on observe dans leurs utérus des spermatides comparables à celles des vésicules séminales, alors que chez les femelles mûres on observe uniquement des spermatozoïdes. La spermiogénèse s'achève chez la femelle et, en particulier, c'est là que les granules d'ascaridine se fusionnent en une seule masse pour donner le cône réfringent du spermatozoïde.

La séparation des divers constituants des grains à bâtonnet suppose des changements importants dans les propriétés du hyaloplasme de la spermatide. Ces constituants étaient jusque-là étroitement associés, puisqu'on ne peut les séparer par des procédés mécaniques au cours des processus de fractionnement cellulaire (voir plus haut, p. 000). Il est probable que les tensions superficielles entre le hyaloplasme et les divers organites cytoplasmiques se modifient brutalement après l'élimination du cytophore; tous ces organites prennent en effet une forme sphérique. Quelle est l'origine de ces modifications, sont-elles d'origine nucléaire? Nous ne pouvons répondre.

III. — PSEUDOPODES DE LA SPERMATIDE

Dans l'ampoule séminale comme dans l'utérus des jeunes femelles, les spermatides possèdent un lobe cytoplasmique animé de mouvements amœboïdes. Ce pseudopode, parfois divisé en plusieurs diverticules, apparaît constitué au microscope électronique par un hyaloplasme osmiophile dense, qui contraste avec celui du reste de la cellule qui est au contraire très clair (pl. 41, fig. *a* et *b*). Entre la membrane cellulaire et le hyaloplasme sombre du pseudopode, on distingue une mince bande claire de 300 Å d'épaisseur environ. En certaines zones cependant, le hyaloplasme sombre se présente nettement décollé de la membrane cellulaire. A fort grandissement, on reconnaît un enchevêtrement de fibrilles osmiophiles de 50 Å de diamètre; le nombre des fibrilles est souvent plus élevé en périphérie (pl. 41, fig. *a* et *b*).

La présence de ce réseau de fibrilles qui constitue la majeure partie du pseudopode de la spermatide suggère que l'on se trouve en présence de chaînes protéiques. Ces chaînes jouant les unes par rapport aux autres, et pouvant peut-être changer de longueur, interviennent sans doute dans les mouvements du pseudopode. De tels mécanismes ont été souvent envisagés pour expliquer les mouvements amœboïdes (DE BRUYN, 1947; GOLDACRE et LORCH, 1950), mais jusqu'ici on a peu vu d'éléments fibreux au niveau des pseudopodes. Très récemment, THIÉRY (1961) a pu observer, par la technique de coloration négative, des fibrilles dans des voiles hyaloplasmiques mobiles de leucocytes étalés.

B. — PHÉNOMÈNES NUCLÉAIRES

A la télophase de la seconde division, les chromosomes se tassent au pôle contre les centrioles. Parvenus au centre de la spermatide, ceux-ci restent encore distincts quelque temps chez la race bivalens (pl. 35, fig. *b*) et bientôt ne forment plus qu'une seule et même masse de 3 μ de diamètre. Les chromosomes de la dyade se sont fusionnés, mais à ce stade la structure du noyau est comparable à celle des chromosomes télophasiques et aucune membrane n'isole cet ensemble du reste du hyaloplasme.

Tandis que se différencie le disque cytophoral, des masses sombres très osmiophiles commencent à apparaître au milieu du noyau (pl. 36, fig. *b*) qui devient peu à peu entièrement opaque et très dense aux électrons (pl. 37, fig. *b*). Lors de l'expulsion du cytophore, le noyau très condensé ne mesure plus que 2 μ de diamètre. Au cours de cette condensation et de cette opacification nucléaire, il semble y avoir extrusion d'une substance, car le noyau apparaît entouré d'une couronne plus dense que le hyaloplasme et en bordure de laquelle se situent les centrioles (pl. 37, fig. *b*). Aucune membrane nucléaire n'est visible, mais la très forte osmiophilie du noyau gêne les observations. Après fixation au permanganate (pl. 40, fig. *a*), on reconnaît cependant à la limite du noyau un fin liséré plus dense; il ne s'agit pas d'une véritable membrane nucléaire, car on ne distingue pas les deux feuillets, mais plutôt d'une zone de condensation à la limite de deux interfaces. Pendant ces phénomènes, la région nucléaire reste ceinturée par un anneau de mitochondries.

De cette évolution du noyau au cours de la spermiogenèse, nous retiendrons que les chromosomes ne semblent pas se déspiraliser, mais continuent au contraire à se condenser pour donner le noyau punctiforme du spermatozoïde. Cette absence de retour à un véritable état interfase explique peut-être que la membrane nucléaire ne se reforme pas.

L'opacification du noyau en fin de spermiogenèse est un phénomène très général; on le rencontre aussi bien chez les Invertébrés (GRASSÉ et coll., 1956; GIBBONS et BRADFIELD, 1957; etc.) que chez les Vertébrés (BURGOS et FAWCETT, 1955; etc.). Du point de vue biochimique, on sait que les protéines associées aux acides nucléiques se transforment à ce stade de la spermatogenèse : on passe du groupe des histones à celui des protamines. BLOCH et HEW (1960), qui ont suivi cette transition chez l'Escargot, ont montré qu'elle correspond à l'opacification du noyau, telle qu'on l'observe au microscope électronique. Il est probable que chez l'*Ascaris*, on se trouve en présence d'un phénomène du même type, accompagné de l'extrusion d'un matériel nucléaire dont nous ignorons la nature chimique.

C. — SPERMATOZOÏDE

I. — ULTRASTRUCTURE DU SPERMATOZOÏDE

La spermiogenèse se termine dans les utérus des femelles et là, les spermatides sphériques subissent une nouvelle réorganisation de leurs organites et se transforment en spermatozoïdes. Les spermatozoïdes de l'*Ascaris* sont bien connus depuis les travaux classiques, et on sait qu'il s'agit de gamètes atypiques sans flagelle et formés de deux parties : la *papille* qui contient le *cône réfringent*, et la *couronne* où est situé le noyau entouré des mitochondries. On trouvera, dans FAURÉ-FREMIET (1913), un aperçu historique sur les nombreuses discussions auxquelles la structure de ce spermatozoïde a donné lieu.

Le microscope électronique permet de retrouver facilement les divers constituants qui ont été décrits autrefois. Nous n'ajouterons que peu de choses à ce qui a été vu, à l'exception de l'appareil de Golgi.

Les granules d'ascaridine sont fusionnés en une seule masse qui constitue le cône réfringent (pl. 42, fig. a). Au niveau de la papille, le cône est entouré d'une couche de cytoplasme de 0,5 μ d'épaisseur. A la limite du hyaloplasme et du cône réfringent, l'ascaridine apparaît plus dense aux électrons, et une véritable membrane la sépare maintenant du cytoplasme. Des diverticules tubulaires de 0,01 μ de diamètre s'enfoncent plus ou moins profondément à l'intérieur de la masse d'ascaridine (pl. 42, fig. b).

Le hyaloplasme qui entoure le cône réfringent au niveau de la papille contient quelques mitochondries, mais sa presque totalité est occupée par les chapeaux golgiens qui se sont séparés des granules d'ascaridine après le rejet du cytophore. Ces saccules golgiens forment une couche continue, interrompue seulement par de rares mitochondries (pl. 42, fig. a et b).

La majorité des mitochondries se retrouve autour du noyau, dans la partie qui forme la couronne du spermatozoïde. Ces mitochondries sont toujours sphériques, mais leur matrice est à nouveau devenue dense aux électrons, tout comme au moment des divisions de maturation.

Bien qu'il n'existe pas de flagelle, on peut se demander si les centrioles persistent dans le spermatozoïde; malheureusement, nous n'avons pu les retrouver. Là encore, nous nous heurtons aux mêmes difficultés qu'avant la formation de l'aster : la cellule est encombrée d'organites variés qui rendent difficile la recherche des centrioles. Peut-être y a-t-il dégénérescence de ces organites, comme l'ont signalé

YASUZUMI et coll. (1961) au cours de la formation des spermatozoïdes atypiques de l'Écrevisse (*Cambaroides japonicus*).

L'absence de flagelle et l'existence d'une grosse inclusion protéique constituant le cône réfringent rendent évidemment le spermatozoïde de l'*Ascaris* très différent des autres gamètes mâles de la série animale; mais, par rapport au schéma du spermatozoïde typique que nous connaissons, il lui manque encore un constituant fondamental : l'acrosome. La présence d'un acrosome chez l'*Ascaris* et, plus généralement, chez les Nématodes est un point qui a été très controversé. Tout récemment, NATH et coll. (1961), à propos d'un travail histo-

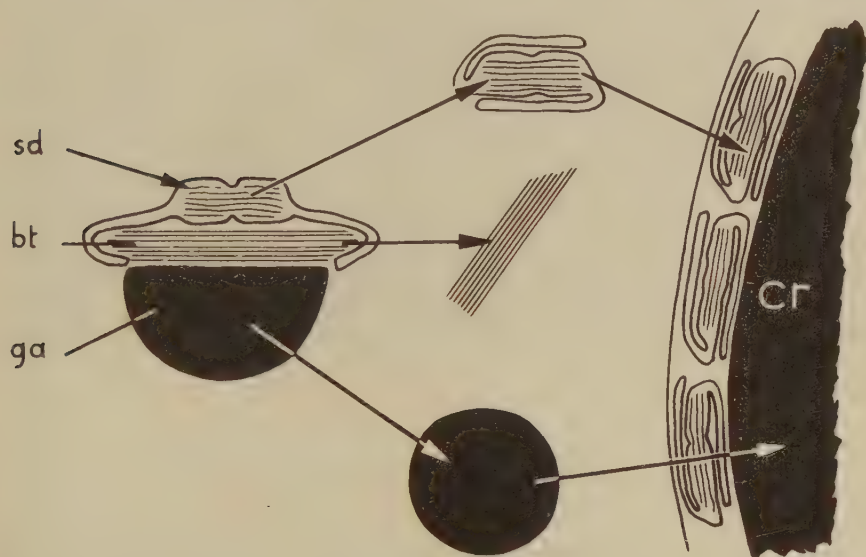


FIG. 10. — Evolution des constituants du grain à bâtonnet au cours de la spermiogénèse. Les grains d'ascaridine (*ga*) se fusionnent pour donner le cône réfringent (*cr*); les chapeaux golgiens (*sd*) dont les bords se replient se disposent à la périphérie du cône réfringent; la substance fibreuse du bâtonnet (*bt*) forme des tiges fibreuses dans les spermatides âgées, mais on ne les retrouve plus dans le spermatozoïde.

chimique sur un parasite du Vautour, ont discuté à nouveau la question dans son ensemble. En fait, toutes les discussions gravitent autour des granules d'ascaridine auxquels on attribue ou non une origine golgienne (BOWEN, 1925; STURDIVANT, 1934; COLLIER, 1936, 1937; NATH, 1956; NATH et SINGH, 1956; HOVASSE, 1958).

Grâce au microscope électronique, nous avons suivi la naissance des granules d'ascaridine et montré qu'ils se forment au milieu d'îlots d'ergastoplasme et que l'appareil de Golgi ne prend aucune part à cette sécrétion. L'acrosome étant par définition un grain de sécrétion d'origine golgienne, le cône réfringent, qui résulte de la fusion de granules d'ascaridine d'origine ergastoplasmique, ne peut être consi-

déré comme l'équivalent d'un acrosome. Ce point étant acquis, il nous faut rechercher ailleurs, s'il existe, l'acrosome de ce spermatozoïde.

Les seuls représentants de l'appareil de Golgi que nous retrouvions dans le spermatozoïde sont les saccules qui coiffent le cône d'ascaridine. Ces saccules sont remplis d'un produit de sécrétion de nature lipéidique qui est apparu au cours de la formation des grains à bâtonnet. Après avoir été associés aux grains d'ascaridine, ces saccules s'en sont détachés avant de se ranger autour du cône réfringent. Les saccules golgiens sont donc autant de grains de sécrétion isolés qui ne se sont pas fusionnés pour donner un acrosome massif. Selon nous, ils sont l'équivalent de *granules proacrosomiens*, qui ont été sécrétés très tôt durant la prophase de première division. Le spermatozoïde de l'*Ascaris* ne possède donc pas un acrosome véritable, mais un ensemble de granules proacrosomiens répartis à la surface du cône réfringent (fig. 10). Sous cet aspect, nous pouvons considérer ce gamète comme encore primitif et peu avancé dans la différenciation.

Notons, pour terminer, que les granules proacrosomiens demeurent très particuliers. Ils ne possèdent pas un caractère APS positif qui témoignerait de la présence de mucopolysaccharides, comme cela existe dans les granules proacrosomiens et les acrosomes typiques (WISLOCKI, 1949; LEBLOND, 1950; CLERMONT et coll., 1955; FAVARD, 1955; etc.).

II. — SPERMATOLYSE INTRA-UTÉRINE

Une partie des spermatozoïdes ne participe pas à la fécondation et dégénère. La dégénérescence débute dans la lumière de l'utérus et se traduit par une disparition du cône réfringent. L'ascaridine est en quelque sorte dissoute selon un processus qui rappelle ce que nous verrons à la fécondation. La membrane qui sépare le hyaloplasme de l'ascaridine demeure et souligne ainsi l'emplacement de l'ancien cône réfringent; d'autre part, on peut encore distinguer les diverticules tubulaires qui s'enfonçaient à l'intérieur du cône (pl. 42, fig. d). En même temps, le cytoplasme de la couronne s'hydrate énormément et forme un lobe dilaté quasi transparent aux électrons (pl. 43, fig. a). Les mitochondries et le noyau dont l'ultrastructure n'est pas modifiée restent groupés dans la région de l'ancien cône réfringent où se trouvent encore les saccules golgiens (pl. 43, fig. a).

Les spermatozoïdes en voie de dégénérescence sont alors capturés par de grandes cellules digitées de la paroi utérine. La capture est faite par de longues microvillosités de la surface des cellules utérines qui semblent se comporter comme autant de petits tentacules préhensiles (pl. 42, fig. d). Puis, le lobe cytoplasmique très hydraté de la couronne s'accole intimement à la cellule utérine; ces deux cellules

s'imbriquent ensuite étroitement l'une dans l'autre, grâce à des digitations qui s'interpénètrent (pl. 43, fig. *a*). Remarquons qu'il n'y a jamais communication directe entre les deux cellules car, à fort grossissement, on voit toujours les deux membranes cellulaires qui s'affrontent au niveau des digitations (pl. 43, fig. *b*). Une telle observation ne pouvait être faite au microscope optique, et les anciens observateurs pensaient qu'il y avait fusion des cytoplasmes (ROMIEU, 1911; ROMEIS, 1912; FAURÉ-FREMIET, 1913; TRETJAKOFF, 1919). Au niveau des digitations, le hyaloplasme du spermatozoïde est plus sombre, ce qui semble indiquer une concentration de substances dans cette région. Peu à peu, les organites du spermatozoïde disparaissent, mais la membrane cellulaire persiste jusqu'à la fin.

La lyse intra-utérine des spermatozoïdes est donc un phénomène très particulier : la cellule se vide de tous ses constituants tout en conservant sa membrane cellulaire. C'est d'abord le cône réfringent qui disparaît, puis commence la lyse des autres organites. Cette seconde phase est sans doute déclenchée par les cellules de la paroi utérine qui sécrètent peut-être des enzymes lytiques et récupèrent ensuite les produits de la digestion. Comme dans le cas des cytophores, le matériel cellulaire en voie de dégénérescence n'est pas perdu pour l'organisme. Dans le premier cas, il s'agit d'une véritable phagocytose, dans le second d'une digestion extra-cellulaire.

VII. — FÉCONDATION

Des coupes faites dans la partie haute de l'utérus permettent de suivre les premières étapes de la fécondation. Nous avons ainsi pu observer la fusion des gamètes et les transformations du spermatozoïde qui l'accompagnent. Au hasard des recherches, nous avons eu la chance de retrouver au microscope électronique les images classiques connues depuis les grands travaux de VAN BENEDEN (1883 *a* et *b*), ZACHARIAS (1887), BOVERI (1888), KULTSCHITZKY (1888), CARNOY et LEBRUN (1897) et de bien d'autres.

Le spermatozoïde pénètre par sa couronne dans l'ovocyte; le cône réfringent reste en arrière et ne rentre qu'en dernier (pl. 44, fig. *a*). Nous n'avons pu vérifier si, comme le pensait VAN BENEDEN (1883 *a* et *b*), le spermatozoïde pénètre au niveau d'une zone préférentielle de l'ovocyte correspondant à ce qu'il nommait le « pôle d'imprégnation ». Dans cette zone, la membrane vitelline de l'ovocyte serait interrompue. On a beaucoup discuté sur l'existence de cette membrane, et FAURÉ-FREMIET (1913) lui niait toute valeur morphologique. Nos micrographies montrent une condensation très nette d'un matériel dense en périphérie de l'ovocyte, formant une couche bien délimitée de 1 000 Å d'épaisseur environ (pl. 44, fig. *a* et *b*). Cette couche relativement épaisse peut être assimilée à la membrane vitelline de Van Beneden, et il conviendrait de savoir si l'entrée du spermatozoïde se fait dans une région où elle serait interrompue. Quand le spermatozoïde est en train de pénétrer, la membrane vitelline est bien discontinue à l'endroit où passe le spermatozoïde (pl. 44, fig. *b*), mais rien ne prouve que cette discontinuité existait avant la fécondation.

En même temps que le spermatozoïde entre dans l'ovocyte, le cône réfringent se dissout. Selon les cas, la dissolution est plus ou moins rapide : le cône réfringent peut avoir entièrement disparu, alors que la papille fait encore saillie à l'extérieur (pl. 44, fig. *a*), ou bien le cône peut être à moitié dissous, alors que le spermatozoïde est déjà tout entier à l'intérieur de l'ovocyte (pl. 44, fig. *b*). La dissolution de l'ascaridine au cours de la fusion des gamètes rappelle tout à fait celle que nous avons décrite chez les spermatozoïdes qui dégénèrent dans la lumière utérine. Il est probable que les digitations hyaloplasmiques qui pénètrent dans le cône réfringent favorisent cette dissolution et la rendent plus rapide. La membrane cytoplasmique qui entoure le cône persiste après sa disparition et indique son ancien emplacement (pl. 44, fig. *a*).

Le cytoplasme du spermatozoïde ne se mélange pas à celui de

l'ovocyte. On s'en rend compte aisément au grand nombre de grains osmiophiles qui apparaissent alors dans le hyaloplasme mâle et viennent ainsi souligner les contours du spermatozoïde (pl. 44, fig. *b*). Depuis les études histochimiques de PANIJEL (1947, 1951) et de PASTEELS (1948), on sait que la dissolution de l'ascaridine s'accompagne de l'apparition subite d'une forte basophilie dans le hyaloplasme du gamète mâle. Il s'agit d'une synthèse de matériel RNP, et les grains osmiophiles que nous observons ne sont autres que des grains RNP.

Cette synthèse de ribonucléoprotéines correspond à une « recharge » de l'œuf en ce matériel, car l'ovocyte mûr en contient très peu, comme l'ont souligné PANIJEL et PASTEELS (1951). Ces auteurs ont beaucoup discuté du rôle de l'ascaridine dans le phénomène; il est probable que cette protéine est métabolisée lors de la fécondation et qu'elle est utilisée pour la synthèse du nouveau matériel RNP, mais le mécanisme des réactions biochimiques n'a pas été étudié. Il n'est pas impensable que les mitochondries mâles interviennent dans ce métabolisme; les mitochondries du spermatozoïde rentrent en effet dans l'ovocyte, comme cela a été déjà vu en microscopie optique (ZOJA, 1893; MEVES, 1911), et elles conservent toute leur individualité. Leur ultrastructure se modifie cependant: leur matrice devient plus claire et elles se gonflent sensiblement (pl. 44, fig. *b*). Ces modifications mitochondriales sont sans doute à rapprocher du métabolisme nucléoprotéique intense qui a lieu à ce stade.

Les saccules golgiens, qui représentent des granules proacrosomiens, ne changent pas de structure et leur rôle reste encore mystérieux. Quant au noyau du spermatozoïde, il gonfle et devient moins dense, mais on ne distingue toujours pas de membrane nucléaire (pl. 44, fig. *a*).

De cette première étape de la fécondation, nous retiendrons l'apparition, dans le hyaloplasme du spermatozoïde, d'une basophilie intense qui se traduit morphologiquement par la formation de nombreux grains RNP. Au cours de la spermatogenèse, nous avons vu à divers moments se constituer des structures ergastoplasmiques qui débutaient soit par l'apparition de grains (sécrétion de l'ascaridine), soit par l'apparition de membranes (formation du disque cytophoral). Ici, ce sont de nouveau les grains RNP qui se forment en premier.

Nous arrêterons là notre étude des ultrastructures au cours de la fécondation. La coque qui vient entourer l'œuf peu après la fusion des gamètes empêche la pénétration convenable des substances d'inclusion, et nous n'avons pu obtenir des coupes ultra-minces d'œufs au moment où se forment les pronuclei.

VIII. — CONCLUSION

L'étude des ultrastructures et de leur évolution au cours de la spermatogenèse de l'*Ascaris* permet de distinguer trois phases importantes durant lesquelles les divers constituants ou organites cellulaires prennent successivement une part prépondérante.

La première phase est dominée par des phénomènes de sécrétion qui aboutissent à la formation des grains à bâtonnet dans le cytoplasme des spermatocytes. Cette phase sécrétoire, qui se déroule tout au long de la prophase de première division, donne son originalité à la spermatogenèse de l'*Ascaris* qui, de ce point de vue, est très comparable à une ovogenèse. La sécrétion est d'abord ergastoplasmique et se traduit par l'apparition des granules d'ascaridine; elle est ensuite golgienne et donne naissance, d'une part aux bâtonnets protéiques, d'autre part aux granules proacrosomiens.

Pendant ces phénomènes, le rôle des membranes apparaît fondamental. Les membranes des vésicules ergastoplasmiques forment des « Nebenkerne » et contribuent à isoler des compartiments où le métabolisme devient très différent de celui du reste du hyaloplasme et où se concentre l'ascaridine. Les membranes des saccules golgiens dilatés retiennent la substance proacrosomienne, mais laissent passer la protéine du bâtonnet qui s'accumule entre l'appareil de Golgi et les grains d'ascaridine.

La croissance du nucléole, la sécrétion nucléolaire d'ascaridine, sont autant de preuves morphologiques de l'importance de cet organite nucléaire dans les processus sécrétoires.

La seconde phase, qui correspond aux deux divisions successives, est surtout caractérisée par des phénomènes hyaloplasmiques et nucléoplasmiques qui interviennent dans les mouvements cellulaires. Des fibrilles, dont l'orientation est polarisée par les centrosomes et les centromères, se forment dans le hyaloplasme, puis dans le nucléoplasme, et constituent l'appareil mitotique. Lors de la cytodièrese, la partie corticale du hyaloplasme semble jouer un rôle déterminant.

La dernière phase, qui s'accomplit au cours de la spermiogenèse, conduit à une distribution nouvelle et précise des organites de la spermatide. Les dictyosomes et l'ergastoplasme sont éliminés dans le cytophore; les granules proacrosomiens se séparent des grains d'ascaridine, tandis que ces derniers se fusionnent pour donner le cône réfringent du spermatozoïde.

AUTEURS CITÉS

1957. AMANO (S.). — The structure of the centrioles and spindle body as observed under the electron and phase contrast microscope (*Cytologia*, **22**, p. 193-212).
1961. AMBROSE (E. J.) et BAJER (A.). — The analysis of mitosis in single living cells by interference microscopy (*Proc. Roy. Soc.*, **153** B, p. 357-366).
1957. ANDRÉ (J.) et ROULLER (C.). — The ultrastructure of the vitelline body in the oocyte of the spider *Tegenaria parietina* (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **3**, p. 977-984).
1841. BAGGE (A.). — Dissertatio inauguralis de evolutione *Stronggli auricularis* et *Ascaris acuminatae*. Erlangen.
1954. BAJER (A.). — Cinemicrographic studies on mitosis in endosperm (*Acta Soc. Bot. Poloniae*, **23**, p. 383-412). — 1957. Cinemicrographic studies on mitosis in endosperm (*Exper. Cell Res.*, **13**, p. 493-502).
1956. BAJER (A.) et MOLÈ-BAJER (J.). — Cinemicrographic studies on mitosis in endosperm. II. Chromosome, cytoplasmic and Brownian movements (*Chromosoma*, **7**, p. 558-607). — 1960. Quelques aspects du développement et du fonctionnement du fuseau mitotique (dans *L'action antimitotique et caryoclasique de substances chimiques*, Colloques du C. N. R. S., Paris, p. 209-214).
1958. BARER (R.), JOSEPH (S.) et MEEK (G. A.). — Membrane interrelationships during meiosis (dans *IV^e Congrès International de Microscopie Electronique*, Springer, édit., Berlin, vol. II, p. 233-236). — 1960. The origin and fate of the nuclear membrane in meiosis (*Proc. Roy. Soc.*, **152** B, p. 353-366).
1959. BARGMANN (W.) et KNOOP (A.). — Ueber die Morphologie der Milchsekretion. Licht- und Elektronen mikroskopische Studien an der Milchdrüse der Ratte (*Z. Zellforsch.*, **49**, p. 344-388).
1947. BARIGOZZI (C.). — Sulla struttura dei cromosomi di *Ascaris megalocéphala* con particolare riguardo all'attacco al fuso (*Experientia*, **3**, p. 74-75).
1950. BEAMS (H. W.), EVANS (T. C.), BREEMEN (V. VAN) et BAKER (W. W.). — Electron microscope studies on structure of mitotic figure (*Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.*, **74**, p. 717-720).
1933. BECKER (W. A.). — Vitalbeobachtungen über den Einfluss von Methylenblau und Neutralrot auf den Verlauf von Karyo- und Zytokinese (*Cytologia*, **4**, p. 135-157). — 1935. Ueber einige Steritfragen der Zellteilung (*Z. Zellforsch.*, **23**, p. 253-260).
1929. BELÁR (K.). — Beiträge zur Kausalanalyse der Mitose (*Arch. Entwickl. Mech.*, **118**, p. 359-480).
- 1883 a. BENEDEN (E. VAN). — Recherches sur la maturation de l'œuf (*Arch. Biol.*, **4**, p. 93-142). — 1883 b. Recherches sur la maturation de l'œuf et la fécondation (*Ascaris megalocéphala*) (*Arch. Biol.*, **4**, p. 265-641).
1884. BENEDEN (E. VAN) et JULIN (C.). — La spermatogenèse chez l'Ascaride mégalo-céphale (*Bull. Acad. Roy. Belgique*, **7**, p. 312-342).
1887. BENEDEN (E. VAN) et NEYT (A.). — Nouvelles recherches sur la fécondation et la division mitotique chez l'Ascaride mégalo-céphale (*Bull. Acad. Roy. Belgique*, **14**, p. 215-295).
1956. BENNETT (H. S.). — The concepts of membrane flow and membrane vesiculation as mechanisms for active transport and ion pumping (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **2**, suppl., p. 99-103).
1958. BERENBAUM (M. C.). — The histochemistry of bound lipids (*Quart. J. Micr. Sc.*, **99**, p. 231-242).

1961. BERKALOFF (A.). — Communication personnelle.
1959. BERNHARD (W.). — Ultrastructural aspects of nucleocytoplasmic relationship (*Exper. Cell Res.*, **6**, suppl., p. 17-50).
1956. BERNHARD (W.) et ROUILLER (C.). — Close topographical relationship between mitochondria and ergastoplasm of liver cells in a definite phase of cellular activity (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **2**, suppl., p. 73-77).
1956. BERNHARD (W.) et HARVEN (E. DE). — Sur la présence, dans certaines cellules de Mammifères, d'un organite de nature probablement centriolaire. Etude au microscope électronique (*C. R. Acad. Sc.*, **242**, p. 288-290). — 1958. L'ultrastructure du centriole et d'autres éléments de l'appareil achromatique (dans *IV^e Congrès International de Microscopie Electronique*, Springer, édit., Berlin, vol. II, p. 217-227).
1955. BERNHARD (W.), BAUER (A.), GROPP (A.), HAGUENAU (F.) et OBERLING (C.). — L'ultrastructure du nucléole de cellules normales et cancéreuses (*Exper. Cell Res.*, **9**, p. 88-100).
1958. BESSIS (M.), BRETON-GORIUS (J.) et THIÉRY (J. P.). — Centriole, corps de Golgi et aster des leucocytes. Etude au microscope électronique (*Rev. Hémat.*, **13**, p. 363-386).
1931. BLEIER (H.). — Zur Kausalanalyse der Kernteilung (*Genetica*, **13**, p. 27-76).
1960. BLOCH (D. P.) et HEW (H. Y. C.). — Schedule of spermatogenesis in the Pulmonate Snail *Helix aspersa*, with special reference to histone transition (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **7**, p. 515-532).
- 1957 a. BOLOGNARI (A.). — Sulla reazione Feulgen-positiva del nucleolo (*Bull. Soc. ital. Biol. sper.*, **33**, p. 46-48). — 1957 b. Ricerche sugli ovociti in accrescimento di *Mytilus galloprovincialis* Lank (*Arch. Zool. Ital.*, **42**, p. 229-248).
1959. BOPP-HASSENKAMP (G.). — Untersuchungen über die submikroskopische Fibrillenstruktur von Kern und Nucleolen (*Z. Naturforsch.*, **14**, p. 188-194). — 1960. Weitere elektronenmikroskopische Untersuchungen am pflanzlichen Zellkern während der Meiosis (*Z. Zellforsch.*, **52**, p. 238-347).
- 1888 a. BOVERI (T.). — Die Befruchtung und Teilung des Eies von *Ascaris* (*Jenaische Zeitschrift f. Naturwiss.*, **22**, p. 685-882). — 1888 b. Die Befruchtung und Teilung des Eies von *Ascaris megalocephala* (*Zellen Studien*, Gustav Fischer, édit., Iéna, 198 p.). — 1900. Ueber die Natur der Centrosomen (*Zellen Studien*, Gustav Fischer, édit., Iéna, 220 p.).
1925. BOWEN (R. H.). — Further notes of the acrosome of the animal sperm. The homologies of non flagellated sperms (*Anat. Rec.*, **31**, p. 201-230).
1958. BRACHET (J.). — *Biochemical Cytology*, Academic Press, édit., New-York, 535 p. — 1959. Le rôle biologique des acides nucléiques (dans *Les Nucléoprotéines*, Institut International de Chimie Solvay, R. Stoops, édit., Bruxelles, et Interscience, édit., New-York, p. 13-36). — 1960. *The Biochemistry of Development*, Pergamon Press, édit., Londres, 320 p.
1961. BRANDES (D.) et GROTH (D. P.). — The fine structure of the Rat prostatic complex (*Exper. Cell Res.*, **23**, p. 159-175).
1893. BRAUER (A.). — Zur Kenntnis der Spermatogenese bei *Ascaris megalocephala* (*Arch. mikr. Anat.*, **42**, p. 153-213).
1952. BROCK (B.), STOWELL (R. E.) et COUCH (K.). — Staining of intranuclear lipids of Mouse liver under different conditions of growth (*Lab. Invest.*, **1**, p. 439-446).
1959. BROWN (C. A.) et RIS (H.). — Amphibian oocyte nucleoli (*J. Morph.*, **105**, p. 377-414).
1956. BUCHER (L. R.) et MC GARRAHAM (K.). — The biosynthesis of cholesterol from acetate-1-C¹⁴ by cellular fractions of Rat liver (*J. Biol. Chem.*, **222**, p. 1-15).
1960. BULLIVANT (S.). — The staining of thin sections of Mouse pancreas prepared by the Fernández-Morán helium II freeze-substitution method (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **8**, p. 639-647).
1960. BULLIVANT (S.) et HOTCHIN (J.). — Chromyl chloride, a new stain for electron microscopy (*Exper. Cell Res.*, **21**, p. 211-214).

1955. BURGOS (M. H.) et FAWCETT (D. W.). — Studies on the fine structure of the mammalian testis I. Differentiation of the spermatids in the cat (*Felis domestica*) (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **1**, p. 287-300).
1958. BUVAT (R.) et PUISSANT (A.). — Observations sur la cytodièrese et l'origine des plasmodesmes (*C. R. Acad. Sc.*, **247**, p. 233-236).
1960. CAMPBELL (P. N.). — The synthesis of proteins by the cytoplasmic components (*Biol. Rev.*, **35**, p. 413-458).
- 1958 a. CARASSO (N.) et FAVARD (P.). — L'origine des plaquettes vitellines de l'œuf de Planorbe (*C. R. Acad. Sc.*, **246**, p. 1596-1597). — 1958 b. Vitellogenèse de la Planorbe. Ultrastructure des plaquettes vitellines (dans *IV^e Congrès International de Microscopie Electronique*, Springer, édit., Berlin, vol. II, p. 431-435). — 1961. Les ultrastructures cytoplasmiques (dans C. MAGNAN, *Traité de Microscopie Electronique*, Hermann, édit., Paris, p. 901-1117).
1952. CARLSON (J. G.). — Microdissection studies of the dividing neuroblast of the grasshopper, *Chortophaga viridifasciata* (De Geer) (*Chromosoma*, **5**, p. 200-220).
1959. CARNEIRO (J.) et LEBLOND (C. P.). — Continuous protein synthesis in nuclei shown by radioautography with H3-labelled amino acids (*Science*, **129**, p. 391-392).
1897. CARNOY (J. D.) et LEBRUN (P.). — La fécondation chez l'*Ascaris megalocephala* (*La Cellule*, **13**, p. 63-195).
1941. CASPERSSON (T.). — Studien über den Eiweissumsatz der Zelle (*Naturwiss.*, **29**, p. 33-43). — 1950. *Cell growth and cell function*, Norton édit., New-York.
- 1937 a. CHAMPETIER (G.) et FAURÉ-FREMIET (E.). — Etude roentgénographique d'une protéine intracellulaire (*C. R. Acad. Sc.*, **204**, p. 1901-1903). — 1937 b. Etude roentgénographique de la structure des fibres d'élastoïdine (*J. Chim. Phys.*, **34**, p. 197-205).
1958. CHANTRENNE (H.). — Newer developments in relation to protein biosynthesis (*Ann. Rev. Biochem.*, **27**, p. 35-56).
1959. CHARDART (R.). — L'ultrastructure des chromosomes prophasiques méiotiques de quelques Orchidées (*C. R. Acad. Sc.*, **249**, p. 1386-1388). — 1960. L'ultrastructure des chromosomes métaphasiques d'une Orchidée. Etude au microscope électronique (*C. R. Acad. Sc.*, **250**, p. 1894-1896). — 1961. Thèse (sous-presses).
1958. CHAYEN (J.) et GAHAN (P. B.). — Lipid component in nucléohistone (*Biochem. J.*, **69**, p. 49-50).
1959. CHAYEN (J.), GAHAN (P. B.) et LACOUR (L.). — The nature of a chromosomal phospholipid (*Quart. J. Micr. Sc.*, **100**, p. 279-284).
1957. CHAYEN (J.), LACOUR (L.) et GAHAN (P. B.). — Uptake of benzpyrene by a chromosomal phospholipid (*Nature*, **180**, p. 652-653).
1859. CLAPARÈDE (E.). — De la formation et de la fécondation des œufs chez les Vers Nématodes (*Mém. Soc. Phys. et Hist. Nat. Genève*, **15**, p. 1-102).
1955. CLERMONT (Y.), GLEGE (R. E.) et LEBLOND (C. P.). — Présence of carbohydrates in the acrosome of the Guinea Pig spermatozoon (*Exper. Cell Res.*, **8**, p. 453-458).
1957. COHEN (A. I.). — Electron microscopic observations of *Amœba proteus* in growth and inanition (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **3**, p. 859-866).
1936. COLLIER (V.). — Studies on the cytoplasmic components in fertilization. I. *Ascaris suilla* (*Quart. J. Micr. Sc.*, **78**, p. 397-418). — 1937. The cytoplasmic components in the fertilization of *Ascaris* (*Arch. exper. Zellforsch.*, **19**, p. 222-227).
1958. CRICK (F. H. C.). — On protein synthesis (*Symp. Soc. Exper. Biol.*, **12**, p. 138-163).
1958. DASS (C. M. S.) et RIS (H.). — Submicroscopic organization of the nucleus during spermiogenesis in the Grasshopper (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **4**, p. 129-131).
1952. DAVIES (H. G.). — The ultra-violet absorption of living Chick fibroblasts during mitosis (*Exper. Cell Res.*, **3**, p. 453-461).

1960. DAVIS (J. M. G.). — The ultrastructure of the mammalian nucleolus (dans *The Cell Nucleus*, Butterworths, édit., Londres, p. 3-14).
1947. DE BRUYN (P. P. H.). — Theories of amœboid movement (*Quart. Rev. Biol.*, **22**, p. 1-24).
1956. DE ROBERTIS (E.). — Electron microscopic observations on the submicroscopic morphology of the meiotic nucleus and chromosomes (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **2**, p. 785-796).
1960. EMMELLOT (P.) et BENEDETTI (E. L.). — Changes in the fine structure of rat liver cells brought about by dimethylnitrosamine (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **7**, p. 393-396).
1957. EPSTEIN (M. A.). — The fine structural organization of Rous tumor cells (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **3**, p. 851-858).
1951. ESTABLE (C.) et SOTELO (J. R.). — Una nueva extructura celular : el nucleolonema (*Inst. Investigaciones Sc. Biol.*, **1**, p. 105-126). — 1955. The behaviour of the nucleolonema during mitosis (dans *Fine structure of Cells*, Noordhoff, édit., Groningen, p. 170-190).
1911. FAURÉ-FRÉMIET (E.). — Mitochondries et grains brillants dans la lignée spermatique de l'*Ascaris megalocephala* (*C. R. Ass. Anat.*, **13**, p. 74-77). — 1913 a. Un albuminoïde des spermatozoïdes de l'*Ascaris megalocephala* (*C. R. Soc. Biol.*, **74**, p. 1407-1409). — 1913 b. Le cycle germinatif chez l'*Ascaris megalocephala* (*Arch. Anat. micr.*, **15**, p. 435-757). — 1961. Communication personnelle.
1937. FAURÉ-FRÉMIET (E.) et FILHOL (M. J.). — La température de dispersion d'une protéine intracellulaire, l'ascaridine (*J. Chim. Phys.*, **34**, p. 444-451).
- 1959 a. FAUTREZ (J.). — Etude histochimique de l'oocyte de premier ordre (*C. R. Ass. Anat.*, **101**, p. 42-89). — 1959 b. Le nucléole et l'anabolisme protéique (*Biol. Jb.*, **27**, p. 17-20).
1949. FAUTREZ-FIRLEFYN (N.). — Recherches cytochimiques sur la distribution des acides nucléiques au cours de la spermatogenèse d'*Artemia salina* L. (*C. R. Soc. Biol.*, **3**, p. 884-886). — Etude cytochimique des acides nucléiques au cours de la gamétogenèse et des premiers stades du développement embryonnaire chez *Artemia salina* L. (*Arch. Biol.*, **62**, p. 391-438).
1955. FAVARD (P.). — Spermatogenèse de *Discoglossus pictus* Otth. Etude cyto-logique. Maturation du spermatozoïde (*Ann. Sc. Nat., Zoologie*, **17**, p. 369-394). — 1958. L'origine ergastoplasmique des granules protéiques dans les spermato-cytes d'*Ascaris* (*C. R. Acad. Sc.*, **247**, p. 531-533). — 1959. L'évolution de l'ergas-toplasme dans les spermatides d'*Ascaris* (*C. R. Acad. Sc.*, **248**, p. 3344-3346).
1958. FAVARD (P.) et CARASSO (N.). — Origine et ultrastructure des plaquettes vitel-lines de la Planorbe (*Arch. Anat. micr.*, **47**, p. 211-234).
1956. FAWCETT (D. W.). — The fine structure of chromosomes in the meiotic pro-phase of vertebrate spermatocyte (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **2**, p. 403-406). — 1959. Changes in the fine structure (dans D. Rudnik, *Developmental Cytology*, Ronald Press, édit., New-York, p. 161-189).
1956. FAWCETT (D. W.) et BURGOS (M. H.). — Observations on the cytomorphosis of the germinal and interstitial cells of human testis (*Ciba Found. Coll., Aging*, **2**, p. 86-96).
1958. FAWCETT (D. W.) et ITO (S.). — Observations on the cytoplasmic membranes of testicular cells examined by phase contrast and electron microscopy (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **4**, p. 135-141).
1959. FAWCETT (D. W.), ITO (S.) et SLAUTTERBACK (D. B.). — The occurrence of intercellular bridges in groups of cells exhibiting synchronous differentiation (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **5**, p. 453-460).
1955. FAWCETT (D. W.) et WILSON (W. J.). — A note of the occurrence of virus-like particules in the spontaneous hepatomas of C3H Mice (*J. Nat. Cancer Inst.*, **15**, p. 1505-1508).
1960. FERNÁNDEZ-MORÁN (H.). — Low-temperature preparation techniques for elec-tron microscopy of biological specimens based on rapid freezing with liquid Helium II (*Ann. New-York Acad. Sc.*, **85**, p. 689-713).

1959. FERREIRA (J. F. D.). — A diferenciação do condrioma aparelho de Golgi e ergastoplasma (Thèse, Lisbonne, 214 p.).
1955. FICQ (A.). — Etude autoradiographique du métabolisme de l'oocyte d'*Asterias rubens* au cours de la croissance (*Arch. Biol.*, **66**, p. 509-524). — 1959. La physiologie du nucléole (dans J. A. Thomas, *Problèmes d'ultrastructures et de fonctions nucléaires*, Masson, édit., Paris, p. 35-63).
1959. FICQ (A.), PAVAN (C.) et BRACHET (J.). — Metabolic processes in chromosomes (*Exper. Cell Res.*, suppl. **6**, p. 105-114).
1937. FILHOL (M. J.). — Phénomènes cytologiques de la sécrétion d'ascaridine, protéine intracellulaire des spermatozoïdes chez l'*Ascaris megalocephala* (*Arch. Anat. micr.*, **33**, p. 301-312).
1898. FÜRST (G.). — Ueber Centrosomen bei *Ascaris megalocephala* (*Arch. mikr. Anat.*, **52**, p. 97-133).
1958. GALL (J. G.). — Chromosomal differentiation (dans *The Chemical Basis of Development*, The John Hopkins Press, édit., Baltimore, p. 103-135).
1953. GEREN (B. B.) et SCHMITT (F. O.). — The structure of the nerve sheath in relation to lipid and lipid-protein layers (*J. Appl. Phys.*, **24**, p. 1421).
1960. GERSCHENFELD (H. M.) et DE ROBERTIS (E.). — Cités dans E. DE ROBERTIS, W. W. NOWINSKI et F. A. SAEZ, *General Cytology*, Saunders, édit., Philadelphie, 555 p.
1957. GIBBONS (I. R.) et BRADFIELD (I. R. G.). — The fine structure of nuclei during sperm maturation in the Locust (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **3**, p. 133-139).
1960. GIBBONS (I. R.) et GRIMSTONE (A. V.). — On flagellar structure in certain Flagellates (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **7**, p. 697-716).
1958. GLAUERT (A.) et GLAUERT (R. H.). — Araldite as embedding medium for electron microscopy (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **4**, p. 191-194).
1950. GOLDACRE (R. J.) et LORCH (I. J.). — Folding and unfolding of protein molecules in relation to cytoplasmic streaming, amœboid movement and osmotic work (*Nature*, **166**, p. 497-500).
1947. GOLDSCHMIDT (R.) et LIN (T. P.). — Comments by Readers (*Science*, **105**, p. 619).
- 1959 a. GOLDSTEIN (L.) et MICOU (J.). — Nuclear-cytoplasmic relationships in human cells in tissue culture (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **6**, p. 1-6). — 1959 b. On the primary site of nuclear RNA synthesis (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **6**, p. 301-303).
1956. GRASSÉ (P. P.), CARASSO (N.) et FAVARD (P.). — Les ultrastructures cellulaires au cours de la spermiogenèse de l'Escargot (*Helix pomatia*, L.) (*Ann. Sc. Nat., Zoologie*, **18**, p. 339-380).
1899. GRIFFIN (B. B.). — Studies on the maturation, fertilization and cleavage of *Thalassema* and *Zirphaea* (*J. Morph.*, **15**, p. 583-634).
1959. GROSS (P. R.). — Further studies on the participation of ribonucleoprotein particles in cytoplasmic structure-assembly (*Fed. Proc.*, **18**, p. 60).
1958. GROSS (P. R.), PHILPOTT (D. E.) et NASS (S.). — The fine structure of the mitotic spindle in Sea Urchin eggs (*J. Ultrastructure Res.*, **2**, p. 55-72).
1960. GUÉNIN (H. A.) et GAUTIER (A.). — Observations sur la structure submicroscopique des chromosomes du *Blaps mucronata* Latr. (*Rev. Suisse Zool.*, **67**, p. 210-216).
1958. HAGUENAU (F.). — The ergastoplasm : its history, ultrastructure and biochemistry (*Intern. Rev. Cytol.*, **7**, p. 425-483). — 1960. Communication personnelle.
1955. HAGUENAU (F.) et LACOUR (F.). — Cytologie électronique de tumeurs hypophysaires expérimentales; leur appareil de Golgi (dans *Fine Structure of Cells*, Noordhoff, édit., Groningen, p. 316-321).
1883. HALLEZ (P.). — Sur la spermatogenèse et les phénomènes de la fécondation chez l'*Ascaris megalocephala* (*Bull. Sc. Nord*, **6**, p. 132-137). — 1884. Sur la spermatogenèse chez l'*Ascaris megalocephala* (*C. R. Acad. Sc.*, **11**, p. 695-697).
1956. HARVEN (E. DE) et BERNHARD (W.). — Etude au microscope électronique de l'ultrastructure du centriole chez les Vertébrés (*Z. Zellforsch.*, **45**, p. 378-398).

1958. HAY (E. D.). — The fine structure of blastema cells and differentiating cartilage cells in regenerating limbs of *Amblystoma larvæ* (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **4**, p. 583-592). — 1960. Concentric lamellar membranes in muscle cells (*Exper. Cell Res.*, **19**, p. 194-198).
1894. HEIDENHAIN (M.). — Neue Untersuchungen über die Centralkörper und ihre Beziehungen zum Kern- und Zellenprotoplasma (*Arch. mikr. Anat.*, **43**, p. 423-758).
1931. HEITZ (E.). — Die Ursache der Gesätzmässigen Zahl, Lage und Grösse pflanzlicher Nukleolen (*Planta*, **12**, p. 775-846).
1957. HENDLER (R. W.), DALTON (A. J.) et GLENNER (C. G.). — A cytological study of the albumin-secreting cells of the hen oviduct (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **3**, p. 325-330).
1896. HENNEGUY (L. F.). — *Leçons sur la cellule*, Carré, édit., Paris, 541 p.
1891. HERMANN (F.). — Beitrag zur Lehre von Entstehung der Karyokinetischen Spindel (*Arch. mikr. Anat.*, **37**, p. 569-586).
1890. HERTWIG (O.). — Vergleich der Ei- und Samenbildung bei Nematoden. Eine Grundlage für celluläre Streitfragen (*Arch. mikr. Anat.*, **36**, p. 1-138).
1956. HIRAMOTO (Y.). — Cell division without mitotic apparatus in Sea Urchin eggs (*Exper. Cell Res.*, **11**, p. 630-636).
1960. HIRSCH (G. C.). — Die Zellorganellen und ihre Zusammenarbeit (dans L. von BERTALANFFY et F. GESSNER, *Handbuch der Biologie*, Athenaeon, édit., Constance, vol. I, p. 353-408).
1960. HIRSCHBEIN (L.). — Lipides liés aux histones du placenta humain (*C. R. Acad. Sc.*, **250**, p. 222-223).
1913. HIRSCHLER (J.). — Ueber die Plasmastrukturen (Mitochondrien, Golgischer Apparat) in den Geschlechtszellen der Ascariden (*Arch. Zellforsch.*, **9**, p. 351-398).
1959. HOLLMANN (K. H.). — L'ultrastructure de la glande mammaire normale de la Souris en lactation. Etude au microscope électronique (*J. Ultrastructure Res.*, **2**, p. 423-443).
1958. HOVASSE (R.). — Etude au microscope électronique des phénomènes cytoplasmiques de la spermatogénèse chez l'*Ascaris* (*Parascaris equorum*) (*XVth Intern. Congr. Zool.*, Sect. IX, paper 22).
1952. HUGHES (A. F. W.). — *The mitotic cycle*, Butterworths, édit., Londres, 232 p.
1948. HUGUES (A. F. W.) et SWANN (M. M.). — Anaphase movements in the living cell (*J. Exper. Biol.*, **25**, p. 45-70).
1957. IDELMAN (S.). — Existence d'un complexe lipides-nucléoprotéines à groupements sulfhydrylés au niveau des chromosomes (*C. R. Acad. Sc.*, **244**, p. 1827-1828). — 1958 a. Localisation du complexe lipides-protéines à groupements sulfhydrylés au sein du chromosome (*C. R. Acad. Sc.*, **246**, p. 1098-1100). — 1958 b. Démasquage des lipides du chromosome géant des glandes salivaires du Chironome par digestion enzymatique des protéines (*C. R. Acad. Sc.*, **246**, p. 3282-3284).
1953. INOUÉ (S.). — Polarization optical studies of the mitotic spindle. I. The demonstration of spindle fibers in living cells (*Chromosoma*, **5**, p. 487-500). — 1959. Motility of cilia and the mechanism of mitosis (*Rev. Modern. Phys.*, **31**, p. 402-408).
1961. INOUÉ (S.) et BAJER (A.). — Cités par AMBROSE et BAJER (1961).
1960. ITO (S.). — The lamellar systems of cytoplasmic membranes in dividing spermatogenic cells of *Drosophila virilis* (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **7**, p. 433-442).
1960. ITO (S.) et FAWCETT (D. W.). — Communication personnelle.
1952. JACOBSON (W.) et WEBB (M.). — The two types of nucleoproteins during mitosis (*Exper. Cell Res.*, **3**, p. 163-183).
1958. KARRER (H. E.). — The ultrastructure of Mouse lung: the alveolar macrophage (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **4**, p. 693-700). — 1960. Electron microscopic study of the phagocytosis process in lung (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **7**, p. 357-366).

1956. KAUFMANN (B. P.) et DEEPESH (N. DE). — Fine structure of chromosomes (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **2**, suppl., p. 419-424).
1960. KAUFMANN (B. P.), GAY (H.) et Mc DONALD (M. R.). — Organizational patterns within chromosomes (*Intern. Rev. Cytol.*, **9**, p. 77-127).
1955. KAWAMURA (K.). — The course of spindle formation in the spermatocyte of the Grasshopper, *Acridium japonicus*, observed by phase microscopy (*Cytologia*, **20**, p. 47-51). — 1957. Studies on mitotic apparatus and cytokinesis of spermatocytes of nine species of Grasshopper (*Cytologia*, **22**, p. 337-346). — 1960 a. Studies on cytokinesis in neuroblasts of the Grasshopper, *Chortophaga viridifasciata* (De Geer). I. Formation and behaviour of the mitotic apparatus (*Exper. Cell Res.*, **21**, p. 1-9). — 1960 b. Idem. II. The role of the mitotic apparatus in cytokinesis (*Exper. Cell Res.*, **21**, p. 9-18).
1960. KAWAMURA (N.). — Cytochemical and quantitative study of protein bound sulphhydryl and disulfide groups in eggs of *Arbacia* during the first cleavage (*Exper. Cell Res.*, **20**, p. 127-138).
1958. KAWAMURA (N.) et DAN (K.). — A cytochemical study of the sulphhydryl groups of Sea Urchin eggs during the first cleavage (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **4**, p. 615-619).
1912. KEMNITZ (G. VON). — Die Morphologie der Stoffwechsels bei *Ascaris lumbricoides* (*Arch. Zellforsch.*, **7**, p. 463-603).
1959. KING (R. C.) et BURNETT (R. G.). — Autoradiographic study of uptake of tritiated glycine, thymidine and uridine by fruit-fly ovaries (*Science*, **129**, p. 1674-1675).
1956. KLEIN (H. P.) et BOOHER (Z. K.). — A particulate fraction of yeast and its relation to lipid synthesis (*Biochim. Biophys. Acta*, **20**, p. 387-388).
1959. KUFF (E. L.) et DALTON (A. J.). — Activity of the isolated membranes of the Golgi system (dans T. HAIYASHI, *Subcellular Praticles*, Amer. Physiol. Soc., édit., Washington, p. 114-127).
1888. KULTSCHITZKY (N.). — Die Befruchtungsvorgänge bei *Ascaris megaloccephala* (*Arch. mikr. Anat.*, **31**, p. 567-593).
1957. KUROSUMI (K.). — Electron microscope studies on mitosis in Sea Urchin blastomeres (*Protoplasma*, **49**, p. 116-139).
1958. KUROSUMI (K.), YAMAGISHI (M.) et NAGAKAWA (T.). — Electron microscopic and cytochemical studies on the cytoplasmic RNA in Sea Urchin eggs (*Okajimas Folia Anat. Japon.*, **30**, p. 369-397).
1958. LA COUR (L. F.), CHAYEN (J.) et GAHAN (P. B.). — Evidence for lipid material in chromosomes (*Exper. Cell Res.*, **14**, p. 469-485).
1958. LAFONTAINE (J. G.). — Structure and mode of formation of the nucleolus in meristematic cells of *Vicia faba* and *Allium cepa* (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **4**, p. 777-784).
1910. LAMS (H.). — Recherches sur l'œuf d'*Arion empiricorum* (Fér.) (*Acad. Roy. Belg.*, classe des Sciences, **2**, p. 1-170).
1950. LEBLOND (C. P.). — Distribution of periodic acid-reactive carbohydrates in the adult Rat (*Amer. J. Anat.*, **86**, p. 1-49).
1958. LEHMANN (F. E.). — Functional aspects of submicroscopic nuclear structures in *Amœba*, *proteus*, and of the mitotic apparatus of *Tubifex* embryos (*Exper. Cell Res.*, suppl., **6**, p. 1-16).
1958. LEHMANN (F. E.) et MANCUSO (V.). — Der fibrilläre Feinbau des Mitoseapparates von *Tubifex* nach Behandlung mit verschiedenen Fixiermittel (*Rev. Suisse Zool.*, **65**, p. 360-371).
1954. LIN (T. P.). — The chromosal cycle in *Parascaris equorum* oogenesis and diminution (*Chromosoma*, **6**, p. 175-198).
1957. LOTFIELD (R. B.). — The biosynthesis of protein (*Progr. Biophys. Biochem.*, **8**, p. 347-386).
1956. LUFT (J. H.). — Permanganate, a new fixative for electron microscopy (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **2**, p. 799-802).

1959. MAKINO (S.), HORI (S. H.) et OHNUKI (Y.). — Some experiments on the demonstration of the fibrous structure of the mitotic spindle (*Jap. J. Genetics*, **34**, p. 334-343).
- 1906 a. MARCUS (H.). — Ei und Samenreife bei *Ascaris canis* (Werner) (*Ascaris mystax*) (*Arch. mikr. Anat.*, **68**, p. 441-490). — 1906 b. Ueber die Beweglichkeit der *Ascaris* Spermien (*Biol. Centralblatt*, **26**, p. 427-430).
1956. MARSLAND (D. A.). — Protoplasmic contractility in relation to gel structure (*Intern. Rev. Cytol.*, **5**, p. 199-227).
1954. MARSLAND (D. A.) et LANDAU (J. V.). — The mechanisms of cytokinesis : temperature, pressure studies on the cortical gel in various marine eggs (*J. Exper. Zool.*, **125**, p. 507-539).
1959. MARTIN (F.) et BRACHET (J.). — Autoradiographic studies on the incorporation of aminoacids into spermatozoa (*Exper. Cell Res.*, **17**, p. 399-404).
1959. MARTOJA (R.) et MARTOJA-PIERSON (M.). — Sur quelques caractères histochimiques du nucléole de l'oocyte au cours de l'interphase de grand accroissement (*Bull. Biol.*, **93**, p. 335-354).
1908. MAYER (A.). — Zur Kenntniss der Samenbildung bei *Ascaris megalcephala* (*Zool. Jahrb.*, **25**, p. 495-546).
1955. MAZIA (D.). — The organization of the mitotic apparatus (*Symp. Soc. Exper. Biol.*, **9**, p. 335-357). — 1958. SH compounds in mitosis. I. The action of mercaptoethanol on the eggs of the sand dollar *Dendraster excentricus* (*Exper. Cell Res.*, **14**, p. 486-494).
1952. MAZIA (D.) et DAN (K.). — The isolation and biochemical characterization of the mitotic apparatus of dividing cells (*Proc. Nat. Acad. Sc.*, **28**, p. 826-838).
1958. MAZIA (D.) et ZIMMERMAN (A. M.). — SH compounds in mitosis. II. The effect of mercaptoethanol on the structure of the mitotic apparatus in Sea Urchin eggs (*Exper. Cell Res.*, **15**, p. 138-153).
1934. MC CLINTOCK (B.). — The relation of a particular chromosomal element to the development of the nucleolus in *Zea mais* (*Z. Zellforsch.*, **21**, p. 294-328).
1855. MEISSNER (G.). — Beobachtungen über das Eindringen der Samenelemente in den Dotter (*Z. Wiss. Zool.*, **6**, p. 208-264).
1958. MERCER (E. H.) et WOLPERT (L.). — Electron microscopy of cleaving Sea Urchin eggs (*Exper. Cell Res.*, **14**, p. 629-632).
1897. MEVES (F.). — Ueber die Entwicklung der männlichen Geschlechtszellen von *Salamandra maculosa* (*Arch. mikr. Anat.*, **48**, p. 1-83). — 1911. Ueber die Beteiligung der Plastochondrien an der Befruchtung des Eies von *Ascaris megalcephala* (*Arch. mikr. Anat.*, **76**, p. 683-713).
1952. MITCHISON (J. M.). — Cell membranes and cell division (*Symp. Soc. Exper. Biol.*, **6**, p. 105-127).
1898. MONTGOMERY (T. H.). — Comparative cytological studies with especial regard to the morphology of the nucleolus (*J. Morphol.*, **15**, p. 265-564).
- 1956 a. MOSES (M. J.). — Chromosomal structures in Crayfish spermatocytes (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **2**, p. 215-217). — 1956 b. Studies on nuclei using correlated cytochemical, light and electron microscope techniques (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **2**, suppl., p. 397-406). — 1958 a. The relation between the axial complex of meiosis prophase chromosomes and chromosome pairing in a Salamander (*Plethodon cinereus*) (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **4**, p. 633-638). — 1958 b. Patterns of organization in the fine structure of chromosomes (dans *IV^e Congrès International de Microscopie Electronique*, Springer, édit., Berlin, vol. II, p. 199-211). — 1958 c. Breakdown and reformation of the nuclear envelope at cell division (*Ibidem*, p. 230-233).
1958. MUNGER (B. L.). — A phase and electron microscopic study of cellular differentiation in pancreatic acinar cells of the Mouse (*Amer. J. Anat.*, **103**, p. 1-17).
1858. MUNK (H.). — Ueber Ei- und Samenbildung und Befruchtung bei den Nematoden (*Z. wiss. Zool.*, **9**, p. 365-416).
1958. NAPOLITANO (L.) et FAWCETT (D. W.). — The fine structure of brown adipose tissue in the new born Mouse and Rat (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **4**, p. 685-692).

1956. NATH (V.). — Cytology of spermatogenesis (*Intern. Rev. Cytol.*, **5**, p. 395-453).
1956. NATH (V.) et SINGH (S.). — The nematode sperm (*Res. Bull. Panjab Univ. Zool.*, **91**, p. 121-134).
1961. NATH (V.), GUPTA (B. L.) et KOCHHAR (D. M.). — The histochemistry of the male germ cells of the Nematode *Porrocaecum angusticolle*, a parasite in the Vulture (*Quart. J. Micr. Sc.*, **102**, p. 39-50).
1959. NEBEL (B. R.). — Observations of mammalian chromosome fine structure and replication with special reference to Mouse testis after ionizing radiation (*Rad. Res.*, suppl., **1**, p. 431-452).
1958. NILSSON (O.). — Electron microscopy of Fallopian tube epithelium (*Exper. Cell Res.*, **14**, p. 341-355).
1883. NUSSBAUM (M.). — Ueber die Veränderungen der Geschlechtsproducte bis zur Eifurchung (*Arch. mikr. Anat.*, **23**, p. 155-213).
1960. ODOR (L. D.) et RENNINGER (D. F.). — Polar body formation in the Rat oocyte as observed with the electron microscope (*Anat. Rec.*, **137**, p. 13-23).
1935. PAINTER (T. S.) et STONE (W.). — Chromosome fusion and speciation in *Drosophila* (*Genetics*, **20**, p. 327-342).
1952. PALADE (G. E.). — A study of fixation for electron microscopy (*J. Exper. Med.*, **95**, p. 285-298). — 1955. Studies on the endoplasmic reticulum. II. Simple dispositions in cells *in situ* (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **1**, p. 567-582). — 1956. Intracisternal granules in the exocrine cells of the pancreas (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **2**, 417-422). — 1958. Microsomal particles and protein synthesis (dans R. B. ROBERTS, Pergamon Press, édit., New-York, p. 36-61). — 1959. Functional changes in the structure of cell components (dans T. HAYASHI, *Subcellular Particles*, Amer. Physiol. Soc., édit., Washington, p. 64-83).
1958. PALADE (G. E.) et SCHIDLowsKY (G.). — Functional association of mitochondria and lipid inclusions (*Anat. Rec.*, **130**, p. 352-353).
1958. PALAY (S. L.). — Morphology of secretion (dans *Frontiers in Cytology*, Yale Univ. Press, édit., p. 303-342).
1959. PALAY (S. L.) et KARLIN (L. J.). — An electron microscopic study of the intestinal villus. II. The pathway of fat absorption (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **5**, p. 373-384).
1955. PALAY (S. L.) et PALADE (G. E.). — The fine structure of neurons (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **1**, p. 69-88).
- 1947 a. PANIJEL (J.). — Contribution à l'étude biochimique de la fécondation chez *Ascaris megalocephala*. II. Le problème général de la méthode de Gram (*Bull. Soc. Chim. Biol.*, **30**, p. 116-120). — 1947 b. *Idem*, p. 1098-1106. — 1950. Recherches sur la nature et la signification de la protéine Gram du gamète mâle d'*Ascaris megalocephala* (*Biochim. Biophys. Acta*, **6**, p. 79-93). — 1951. *Métabolisme des nucléoprotéines dans la gamétogenèse et la fécondation*, Hermann, édit., Paris, 288 p.
1951. PANIJEL (J.) et PASTEELS (J.). — Analyse cytochimique de certains phénomènes de recharge en ribonucléoprotéines. Le cas de l'œuf de *Parascaris equorum* lors de la fécondation (*Arch. Biol.*, **62**, p. 353-370).
1958. PANTELOURIS (E. M.). — Protein synthesis in newt oocytes (*Exper. Cell Res.*, **14**, p. 584-595).
1929. PARAT (M.). — Le chondriome actif de la cellule animale et le phénomène de « pachygenèse » (*C. R. Acad. Sc.*, **188**, p. 1517-1519).
1948. PASTEELS (J.). — Recherches sur le cycle germinale de l'*Ascaris* (*Arch. Biol.*, **59**, p. 405-446).
1960. PEARSE (A. G. E.). — *Histochemistry theoretical and applied*, Churchill, édit., Londres, 998 p.
1957. PELC (S. R.). — On the connection between the synthesis of RNA and DNA in the testis of the Mouse (*Exper. Cell Res.*, **12**, p. 320-324).
1959. PELLING (C.). — Chromosomal synthesis of ribonucleic acid as shown by incorporation of uridine labelled with tritium (*Nature*, **184**, p. 655-660).
1961. PERRY (R. P.), HELL (A.) et ERRERA (M.). — The role of the nucleolus in ribonucleic acid-and protein synthesis (*Biochim. Biophys. Acta*, **49**, p. 47-57).

1957. POLICARD (A.), BESSIS (M.) et BRETON-GORIUS (J.). — Structures myéliniques observées au microscope électronique sur des coupes de globules rouges en voie de lyse (*Expr. Cell Res.*, **13**, p. 184-186).
1958. POLICARD (A.), COLLET (A.) et PRÉGERMAIN (S.). — Etude au microscope électronique de la lipophanérose cytoplasmique (dans *IV^e Congrès International de Microscopie Electronique*, Springer, édit., Berlin, vol. II, p. 258-261).
1954. PORTER (K. R.). — Electron microscopy of basophilic components of cytoplasm (*J. Histo. Cytochem.*, **2**, p. 346-373). — 1957. The submicroscopic morphology of protoplasm (*Harvey Lect.*, **51**, p. 175-228). — 1958. Problems in the study of nuclear fine structure (dans *IV^e Congrès International de Microscopie Electronique*, Springer, édit., Berlin, vol. II, p. 186-199).
1958. PORTER (K. R.) et CAULFIELD (J. B.). — The formation of the cell plate during cytokinesis in *Allium cepa* L. (dans *IV^e Congrès International de Microscopie Electronique*, Springer, édit., Berlin, vol. II, p. 503-507).
1960. PORTER (K. R.) et MACHADO (R. D.). — Studies on the endoplasmic reticulum. IV. Its form and distribution during mitosis in cells of Onion root tip (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **7**, p. 167-180).
1904. PRENANT (A.), BOUIN (P.) et MAILLARD (L.). — *Traité d'histologie. I. Cytologie générale et spéciale*, Schleicher, édit., Paris, 977 p.
1931. RAPKINE (L.). — Sur les processus chimiques au cours de la division cellulaire (*Ann. Physiol. Physicochim. Biol.*, **7**, p. 382-418).
1952. RATTENBURY (J. A.) et SERRA (J. A.). — Types of nucleolus reconstitution in telophase and the question of the « nucleolar organizer » (*Portugalix Acta Biol.*, **3**, p. 239-260).
1957. REBHUN (L. I.). — Nuclear changes during spermiogenesis in a pulmonate snail (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **3**, p. 509-524).
1847. REICHERT (K. B.). — Beitrag zur Entwicklungsgeschichte der Samenkörper bei den Nematoden (*Müller's Arch. Anat.*, p. 88-147).
1958. REVEL (J. P.), ITO (S.) et FAWCETT (D. W.). — Electron micrographs of myelin figures of phospholipid simulating intracellular membranes (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **4**, p. 495-498).
1961. RICHARDS (B. M.) et BAJER (A.). — Mitosis in endosperm. Changes in nuclear and chromosome mass during mitosis (*Exper. Cell Res.*, **22**, p. 503-508).
1956. RIS (H.). — A study of chromosomes with the electron microscope (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **2**, suppl., p. 385-392). — 1958. Die Feinstruktur des Kerns während der Spermiogenese (*Coll. Ges. physiol. Chem.*, **9**, p. 1-30).
1959. ROBERTSON (J. D.). — The ultrastructure of cell membranes and their derivatives (*Biochem. Soc. Symp.*, **16**, p. 3-43).
1912. ROMEIS (B.). — Beobachtungen über Degenerationsercheinungen von Chondriosomen. Nach Untersuchungen an nicht zur Befruchtung gelangten Spermien von *Ascaris megalocephala* (*Arch. mikr. Anat.*, **80**, p. 129-170).
1911. ROMET (M.). — La spermiogenèse chez l'*Ascaris megalocephala* (*Arch. Zellforsch.*, **6**, p. 254-325).
1958. ROTH (L. E.). — Observations on cells of the ovotestis of a pulmonate snail (dans *IV^e Congrès International de Microscopie Electronique*, Springer, édit., Berlin, vol. II, p. 238-241).
1960. ROTH (L. E.), OBETZ (S. W.) et DANIELS (E. W.). — Electron microscopic studies of mitosis in Amebæ (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **3**, p. 207-220).
1959. ROTHSTEIN (R. C.). — The effect of sulphhydryl compounds on the colloidal state of the cytoplasm of *Arbacia* eggs (*Biol. Bull.*, **117**, p. 425).
1957. ROUILLER (C.). — Contribution de la microscopie électronique à l'étude du foie normal et pathologique (*Ann. Anat. path.*, **2**, p. 548-562).
1950. ROZSA (G.) et WYCKOFF (R. W. G.). — The electron microscopy of dividing cell (*Biochim. Biophys. Acta*, **6**, p. 334-339).
1959. RUSTAD (R. C.). — An interference microscopical and cytochemical analysis of local mass changes in the mitotic apparatus during mitosis (*Exper. Cell Res.*, **16**, p. 575-583).

1959. RUTHMANN (A.). — The fine structure of the meiotic spindle of the Crayfish (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **5**, p. 177-180).
1958. SATIR (P. G.) et PEACHEY (L. D.). — Thin sections. II. A simple method for reducing compression artifacts (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **4**, p. 345-347).
1958. SATÔ (S.). — Electron microscope studies on the mitotic figure. I. Fine structure of the metaphase spindle (*Cytologia*, **23**, p. 383-394).
1905. SCHEBEN (L.). — Beiträge zur Kenntnis der Spermatozoons von *Ascaris megalocephala* (*Z. wiss. Zool.*, **79**, p. 397-431).
1939. SCHMIDT (W. J.). — Doppelbrechung der Kernspindel und Zugfasertheorie der Chromosomenbewegung (*Chromosoma*, **1**, p. 253-264).
1883. SCHNEIDER (A.). — *Das Ei und seine Befruchtung*. Breslau.
1932. SCHRADER (F.). — Recent hypotheses on the structure of spindles in the light of certain observations in Hemiptera (*Z. wiss. Zool.*, **142**, p. 520-540). — 1934. On the reality of spindle fibers (*Biol. Bull.*, **67**, p. 519-534). — 1935. Notes on the mitotic behaviour of long chromosomes (*Cytologia*, **6**, p. 422-431). — 1953. *Mitosis. The movements of chromosomes in cell division*, Columbia Univ. Press, édit., New-York, 170 p.
1953. SELBY (C. C.). — Electron micrographs of mitotic cells of the Ehrlich Mouse ascites tumor in thin sections (*Exper. Cell Res.*, **5**, p. 386-393).
- 1958 a. SERRA (J. A.). — Interpretation of nucleolar inclusions (*Nature*, **181**, p. 1544-1545). — 1958 b. Chromosomal units of genetic determination. I. Two dimensional composite nature of the gene in macroorganisms (*Rev. port. zool. biol. geral.*, **1**, p. 109-125).
1957. SHIMAKURA (K.). — *Proc. Intern. Genet. Symp.*, p. 126 (résumé).
1940. SHIMAMURA (T.). — Studies on the effect of the centrifugal force upon nuclear division (*Cytologia*, **11**, p. 186-216).
1956. SHIMAMURA (T.) et OTA (T.). — Cytochemical studies on the mitotic spindle and the phragmoplast of plant cells (*Exper. Cell Res.*, **11**, p. 346-361).
- 1959 a. SIEKEVITZ (P.). — On the meaning of intracellular structure for metabolic regulation (*Ciba Found. Symp.*, Churchill, édit., Londres, p. 17-49). — 1959 b. The chemical basis of proteins synthesis (*Exper. Cell Res.*, suppl., **7**, p. 90-110).
- 1958 a. SIEKEVITZ (P.) et PALADE (G. E.). — A cytochemical study on the pancreas of the Guinea Pig. I. Isolation and enzymatic activities of cell fractions (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **4**, p. 203-218). — 1958 b. *Idem.*, II. Functional variations in the enzymatic activity of microsomes (*Ibidem*, p. 309-318).
1960. SIRLIN (J. R.). — Facts and speculation on the function of nuclear components (dans *The Cell Nucleus*, Butterworth, édit., Londres, p. 35-48).
1956. SIRLIN (J. L.) et WADDINGTON (C. H.). — Cell sites of protein synthesis in the early Chick embryo as indicated by autoradiographs (*Exper. Cell Res.*, **11**, p. 197-205).
1959. SISKEN (J. E.). — The synthesis of nucleic acids and proteins in the nuclei of Tradescantia root tips (*Exper. Cell Res.*, **16**, p. 602-614).
1958. SjöSTRAND (F. S.) et BAKER (R. F.). — Fixation by freezing-drying for electron microscopy of tissue cells (*J. Ultrastructure Res.*, **1**, p. 239-246).
1959. SLAUTERBACK (D. B.) et FAWCETT (D. W.). — The development of the cnidoblasts of Hydra. An electron microscope study of cell differentiation (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **5**, p. 441-452).
- 1958 a. SOTELO (J. R.) et TRUJILLO-CENOZ (O.). — Submicroscopic structure of chromosomes during prophase (*Exper. Cell Res.*, **14**, p. 1-8). — 1958 b. Electron microscope study of the kinetic apparatus in animal sperm cells (*Z. Zellforsch.*, **48**, p. 565-601). — 1960. Electron microscope study on spermatogenesis. Chromosome morphogenesis at the onset of meiosis (cyte I) and nuclear structure of early and late spermatids (*Z. Zellforsch.*, **51**, p. 243-277).
1957. STEIN (Y.) et SHAPIRO (B.). — The synthesis of neutral glycerides by fractions of Rat liver homogenates (*Biochim. Biophys. Acta*, **24**, p. 197-198).

1958. STERN (H.). — Variations in sulfhydryl concentration during microsporocyte meiosis in the anthers of *Lilium* and *Trillium* (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **4**, p. 157-161).
1957. STOECKENIUS (W.). — OsO_4 -Fixierung intrazellulärer Myelinfiguren (*Exper. Cell Res.*, **13**, p. 410-414). — 1959. An electron microscope study of myelin figures (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **5**, p. 491-500).
- 1895 a. STRICHT (O. VAN DER). — De l'origine de la figure achromatique de l'ovule en mitose chez le Thysanozoon (*Verh. anat. Versam. in Strasburg*). — 1895 b. Contributions à l'étude de la forme, de la structure et de la division du noyau (*Bull. Acad. Roy. Belgique*, **29**, p. 38-58).
1934. STURDIVANT (H. P.). — Studies on the spermatocyte divisions in *Ascaris megaloccephala* with special reference to the central bodies, Golgi complex and mitochondria (*J. Morphol.*, **55**, p. 435-475).
1952. SWANN (M. M.). — The nucleus in fertilization, mitosis and cell-division (*Symp. Soc. exper. Biol.*, **6**, p. 89-104).
1958. SWIFT (H.). — Cytoplasmic particles and basophilia (dans *The Chemical Basis of Development*, the John Hopkins Press, édit., Baltimore, p. 174-210). — 1959. Studies on nucleolar function (dans *A Symposium on Molecular Biology*, The University of Chicago Press, édit., p. 266-303).
1959. THIÉRY (J. P.). — Etude sur le plasmocyte en contraste de phase et en microscopie électronique. IV. La clasmatose (*Rev. fr. Etudes Clin. et Biol.*, **6**, p. 601-604). — 1960. Microcinematographic contributions to the study of plasma cells (Ciba Found. Symp., *Cellular aspects of Immunology*, Churchill, édit., Londres, p. 59-92). — 1961. (*C. R. Soc. Biol.*, sous presse).
1959. TOKUYASU (K.) et YAMADA (E.). — The fine structure of the retina studied with the electron microscope. IV. Morphogenesis of outer segments of retina rods (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **6**, p. 225-230).
1905. TRETJAKOFF (D.). — Die Spermatogenese bei *Ascaris megaloccephala* (*Arch. mikr. Anat.*, **65**, p. 383-438). — 1919. Die intrauterine Umbildung der Spermien bei *Ascaris* (*Arch. mikr. Anat.*, **85**, p. 135-203).
1958. TRIER (J. S.). — The fine structure of the parathyroids cells (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **4**, p. 13-22).
1903. VEJDOVSKY (F.) et MZAREK (A.). — Umbildung des Cytoplasma während der Befruchtung und Zelltheilung nach der Untersuchungen am Rhynchelmis-Eie (*Arch. mikr. Anat.*, **62**, p. 431-579).
1955. VINCENT (W. S.). — Structure and chemistry of nucleoli (*Intern. Rev. Cytol.*, **4**, p. 269-298).
1958. WADA (B.) et SATÔ (S.). — Electron microscopic figures contributing to the analysis of the chromosome movement in anaphase (*The Nucleus*, **1**, p. 173-182).
1959. WARD (R. T.). — Observations on the origin of the yolk (*Anat. Rec.*, **134**, p. 651).
1929. WASSERMANN (F.). — *Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen*, Springer, édit., Berlin.
1955. WATSON (M. L.). — The nuclear envelope. Its structure and relation to cytoplasmic membranes (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **1**, p. 257-270).
- 1959 a. WENT (H. A.). — Some immunochemical studies on the mitotic apparatus of Sea Urchin (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **5**, p. 353-356). — 1959 b. Studies on the mitotic apparatus of the Sea Urchin by means of antigen-antibody reactions in agar (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **6**, p. 447-455). — 1960. Dynamic aspects of mitotic apparatus protein (*Ann. N.-Y. Acad. Sc.*, **90**, p. 422-429).
1959. WHALEY (W. G.), MOLLENHAUER (H. H.) et KEPHART (J. E.). — The endoplasmic reticulum and the Golgi structure in Maize root cells (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **5**, p. 501-506).
1960. WHALEY (W. G.), MOLLENHAUER (H. H.) et LEECH (J. H.). — The ultrastructure of the meristematic cell (*Amer. J. Bot.*, **47**, p. 401-449).
1936. WHITE (M. J. D.). — The chromosome cycle of *Ascaris megaloccephala* (*Nature*, **137**, p. 783).

1913. WIDMAN (E.). — The spermatogenesis of *Ascaris megalocephala* with special reference to the two cytoplasmic inclusions, the refractive body and the mitochondria : their origin, nature and role in fertilization (*J. Morphol.*, **24**, p. 421-457).
1959. WILKINS (M. H. F.) et ZUBAY (G.). — X-ray diffraction studies of the molecular structure of nucleohistone and chromosomes (*J. Mol. Biol.*, **1**, p. 179-185).
1925. WILSON (E. B.). — *The Cell in Development and Heredity*. The Mac Millan Comp., édit., New-York, 1232 p.
1958. WISCHNITZER (S.). — An electron microscope study of the nuclear envelope of Amphibian oocytes (*J. Ultrastructure Res.*, **1**, p. 201-222).
1949. WISLOCKI (G. B.). — Seasonal changes in the testes, epididymides and seminal vesicles of Deer investigated by histochemical methods (*Endocrinology*, **44**, p. 167-189).
1960. WOLPERT (L.). — The mechanics and mechanism of cleavage (*Intern. Rev. Cytol.*, **10**, p. 163-216).
1958. YAMADA (E.). — Some observations on the fine structure of centriole in mitotic cell (*Kurume Med. J.*, **5**, p. 36-44).
1960. YAMADA (E.) et ISHIKAWA (T.). — The fine structure of the corpus luteum in the Mouse ovary as revealed by electron microscopy (*Kyushu J. Med. Sc.*, **11**, p. 235-259).
1959. YASUZUMI (G.). — Electron microscopy of the nuclear membrane in prophase and telophase in Yoshida sarcoma cells (*Z. Zellforsch.*, **50**, p. 110-120).
1957. YASUZUMI (G.) et ISHIDA (H.). — Spermatogenesis in animals as revealed by electron microscopy. II. Submicroscopic structure of developing spermatid nuclei of Grasshopper (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **3**, p. 663-668).
1960. YASUZUMI (G.), ISHIDA (H.), NAKANO (S.) et YAMAMOTO (H.). — Spermatogenèse des animaux, révélée par le microscope électronique. IX. Etude au microscope électronique de la télophase des spermatocytes de *Cipangopaludina malleata* et de *Gelastorhinus bicolor* de Haan, avec des remarques sur les Nebenkern (*J. Ultrastructure Res.*, **3**, p. 484-494).
1961. YASUZUMI (G.), KAYE (G. I.), PAPPAS (G. D.), YAMAMOTO (H.) et TSUBO (I.). — Nuclear and cytoplasmic differentiation in developing sperm of the Crayfish (*Z. Zellforsch.*, **53**, p. 141-158).
1958. YASUZUMI (G.), SAWADA (T.), SUGIHARA (R.), KIRIYAMA (M.) et SUGISKA (M.). — Electron microscope researches on the ultrastructure of nucleoli in animal tissues (*Z. Zellforsch.*, **48**, p. 10-23).
1887. ZACHARIAS (O.). — Neue Untersuchungen über die Copulation der Geschlechts-producte und den Befruchtungsvorgang bei *Ascaris megalocephala* (*Arch. mikr. Anat.*, **30**, p. 111-182).
- 1960 a. ZALOKAR (M.). — Sites of ribonucleic acid and protein synthesis in *Drosophila* (*Exper. Cell Res.*, **19**, p. 184-186). — 1960 b. Sites of protein and ribonucleic acid synthesis in the cell (*Ibidem*, p. 559-576).
1960. ZIMMERMAN (A. M.). — Physico-chemical analysis of the isolated mitotic apparatus (*Exper. Cell Res.*, **20**, p. 529-547).
1893. ZOJA (R.). — Untersuchungen über die Entwicklung der *Ascaris megalocephala* (*Arch. mikr. Anat.*, **47**, p. 218-260).
-

LÉGENDES DES PLANCHES

Je tiens à remercier M^{lle} GACHER, M^{me} DAUBENTON et M. MÉMIN pour avoir exécuté les agrandissements photographiques, et M. BRUNISSEN pour le soin tout particulier avec lequel il a effectué le tirage des planches. Que M. JOLI et M. PAUL, qui ont repiqué et lettré les clichés, soient également assurés de ma reconnaissance.

PLANCHE 1

SPERMATOGONIES

FIG. a. — Vue d'ensemble d'une spermatogonie. Après fixation au permanganate de potassium, on reconnaît les membranes du réticulum endoplasmique (*er*) et l'emplacement clair des globules lipidiques (*l*) qui ont été dissous au cours de la déshydratation. Le noyau est entouré par une mince couche de cytoplasme et présente une invagination (*inv*). Il contient un nucléole (*nu*) assez massif; le nucléoplasme apparaît plus sombre que les masses de chromatine (*crm*) qui sont situées contre la membrane nucléaire (*mn*). *M*, mitochondrie. (× 15 000.)

FIG. b, c et d. — Portions de diverses spermatogonies montrant les relations du réticulum endoplasmique avec la membrane nucléaire (fig. b et d) et avec l'espace extra-cellulaire (fig. c). Les flèches indiquent les zones où ces relations sont le plus visibles. *N*, noyau; *l*, globule lipidique. (× 30 000.)

FIG. e. — Petit dictyosome en bordure duquel est situé un élément du réticulum endoplasmique (*er*). *N*, noyau. (× 30 000.)

PLANCHE 2

JEUNES SPERMATOCYTES DE PREMIER ORDRE

FIG. a. — Spermatocyte au début du stade leptotène. Les masses de chromatine (*crm*) situées contre la membrane nucléaire commencent à disparaître. Le nucléole (*nu*) est creusé d'une cavité; le cytoplasme renferme des mitochondries (*M*) et les globules lipidiques (*l*) à contour polygonal. (× 8 500.)

FIG. b. — Spermatocyte au stade zygotène. Le nucléoplasme est devenu homogène et les chromosomes (*Ch*), groupés à un des hémisphères du noyau, montrent leurs éléments centraux (voir aussi la planche 10). Les globules lipidiques (*l*) ont la même forme qu'au stade précédent, et l'ergastoplasme (*er*) isole parfois des masses cytoplasmiques à contenu plus dense, dont la signification nous échappe. (× 8 500.)

FIG. c. — Spermatocyte au début du stade pachytène. Le noyau a grossi, les chromosomes (*Ch*) sont bien visibles et le nucléole (*nu*) est creusé de plusieurs cavités. Les globules lipidiques (*l*) sont maintenant entourés d'une auréole claire. *M*, mitochondrie; *N*, noyau. (× 10 000.)

PLANCHE 3

FORMATION DES « NEBENKERNE » ERGASTOPLASMIQUES

Vue d'ensemble montrant des portions de plusieurs spermatocytes, dans lesquels se forment des « Nebenkerne » ergastoplasmiques. Les divers stades de l'évolution sont notés de 1 à 4. *M.* mitochondrie; *N*, noyau. ($\times 10\,000$).

PLANCHE 4

DISPARITION DES GLOBULES LIPIDIQUES

FIG. a. — Début de la formation du « Nebenkern ». Le globule lipidique à bords diffus commence à être entouré par une couche d'ergastoplasme. ($\times 34\,000$.)

FIG. b. — A un stade plus avancé, cinq couches concentriques se sont édifiées et on remarque l'abondance des grains RNP vers le centre. *M*, mitochondries. ($\times 34\,000$.)

FIG. c. — Au terme de l'évolution, le globule lipidique a presque entièrement disparu et il ne subsiste qu'une petite masse claire au centre du « Nebenkern ». Ce dernier est maintenant très développé et le nombre des couches ergastoplasmiques dépasse la douzaine. ($\times 34\,000$.)

PLANCHE 5

FORMATION DES GRANULES D'ASCARIDINE

FIG. a. — Apparition, dans l'ilot central de hyaloplasme, d'un petit granule d'ascaridine dense aux électrons. ($\times 34\,000$.)

FIG. b et c. — A un stade plus avancé de la sécrétion, le granule d'ascaridine a grossi, tandis que le nombre des couches ergastoplasmiques du « Nebenkern » a diminué. ($\times 34\,000$.)

PLANCHE 6

FORMATION DES GRANULES D'ASCARIDINE (suite).

FIG. a. — Granules d'ascaridine en fin de croissance. Les couches ergastoplasmiques qui entourent les granules sont en voie de disparition. *M*, mitochondries. ($\times 34\,000$.)

FIG. b. — Granules d'ascaridine dont la sécrétion est achevée. Les lames ergastoplasmiques (*er*) se sont ouvertes. On remarque à droite deux petits dictyosomes (*g*) avec leur saccule dilaté (*sd*). ($\times 34\,000$.)

PLANCHE 7

FIG. a et b. — DISSOLUTION DE L'ASCARIDINE

Coupes de spermatocytes fixés au tétroxyde d'osmium. Les coupes ont été colorées à l'hydroxyde de plomb puis traitées par une solution diluée de potasse pendant 5 minutes. Les granules d'ascaridine ont complètement disparu, des trous indiquent leur ancien emplacement. Les globules (*l*) ainsi que les autres structures ne sont pas modifiés par ce traitement. *M*, mitochondries. (Fig. a, $\times 8\,000$; fig. b, $\times 20\,000$.)

FIG. c. — MULTIPLICATION DES GRANULES D'ASCARIDINE

Granules d'ascaridine en cours de fragmentation. A côté de granules encore ceinturés de couches ergastoplasmiques, on distingue des grains d'ascaridine groupés en amas ou alignés en chapelet (flèches), provenant de la division d'un granule initial plus gros. *Ch*, chromosomes; *N*, noyau. ($\times 10\,000$.)

PLANCHE 8

FORMATION DES GRAINS A BÂTONNET

FIG. a et b. — Début de l'association des grains d'ascaridine avec le saccule dilaté (*sd*) d'un dictyosome (*g*). En a, le grain d'ascaridine présente un méplat contre lequel s'accumule la substance du bâtonnet (*bt*). En b, le bâtonnet (*bt*) provoque la formation d'une encoche dans le grain d'ascaridine. Les mitochondries (*M*) sont accolées aux saccules (*sd*). ($\times 33\,000$.)

FIG. c et d. — Même association entre les grains d'ascaridine, les dictyosomes (*g*), les saccules (*sd*) et les mitochondries (*M*). De plus, on distingue les vésicules ergastoplasmiques (*er*) qui coiffent les dictyosomes (*g*). ($\times 33\,000$.)

FIG. e. — Grains à bâtonnet en fin de croissance. Les bâtonnets (*bt*) forment une encoche claire dans les grains d'ascaridine; ces derniers sont recouverts d'un chapeau qui représente le saccule golgien dilaté (*sd*) des stades précédents. *g*, dictyosomes. ($\times 16\,500$.)

FIG. f et g. — Dans le chapeau golgien (*sd*) des grains à bâtonnet s'est accumulée une substance à structure myélinique. ($\times 20\,000$.)

PLANCHE 9

STRUCTURE DU BÂTONNET

FIG. a. — Fraction de grains à bâtonnet, obtenue après broyage mécanique des spermatocytes dans une solution de sucrose, et concentration de ces organites par la technique des gradients de densité. Fixation au tétroxyde d'osmium. (Préparation faite en collaboration avec J. P. Zalta.) ($\times 8\,000$.)

FIG. b et c. — Grains à bâtonnet, isolés selon la méthode précédente, et montrant la structure lamellaire du bâtonnet (*bt*). L'ascaridine apparaît plus claire, car elle a été en partie dissoute, lors de la coloration des coupes, par l'acide phosphotungstique en solution alcoolique. *g*, chapeau golgien. ($\times 29\,000$.)

FIG. d. — Grains à bâtonnet dans un spermatocyte fixé au formol. Après coloration de la coupe par l'acide phosphotungstique, l'ascaridine est entièrement dissoute, tandis que le bâtonnet (*bt*) est vivement coloré. ($\times 29\,000$.)

FIG. e et f. — Même préparation que pour les deux figures précédentes. La structure lamellaire du bâtonnet (*bt*) est bien visible. (Fig. e, $\times 29\,000$; fig. f, $\times 42\,000$.)

PLANCHE 10

STRUCTURE DES CHROMOSOMES AU DÉBUT DE LA PROPHASE

FIG. a. — Vue d'ensemble d'un spermatocyte I en début de prophase. Le nucléoplasme est piqué de grains osmiophiles, le nucléole (*nu*) est creusé d'une cavité centrale. Les éléments centraux des chromosomes sont observables sur une longueur plus ou moins grande. L'ergastoplasme (*er*) délimite des îlots hyaloplasmiques plus denses dont la signification nous échappe. *l*, globules lipidiques; *M*, mitochondries. ($\times 14\,500$.)

FIG. b et c. — Éléments centraux des chromosomes. Au niveau de la flèche, sur la figure b, on distingue entre les deux rubans latéraux un filament axial. En c, la condensation du nucléoplasme autour des éléments centraux correspond peut-être aux filaments de chromatine. ($\times 44\,000$.)

PLANCHE 11

EVOLUTION DU NUCLÉOLE AU STADE PACHYTÈNE

FIG. a. — Spermatocyte I au moment de la disparition des globules lipidiques. Le nucléole (*nu*) a augmenté de volume et s'est creusé de nombreuses cavités. Les chromosomes (*Ch*), ici au stade pachytène, se reconnaissent à leur densité intermédiaire entre celle du nucléoplasme et celle du nucléole. De petits fragments nucléolaires (flèches) sont reliés ou non par des ponts au nucléole (*nu*). D'autres masses denses d'aspect nucléolaire sont situées au bord des chromosomes (*Ch*). ($\times 10\,000$.)

FIG. b. — Spermatocyte I au stade de la sécrétion d'ascaridine dans les « Nebenkerne ». Certaines parties des chromosomes (*Ch*) sont en contact avec les deux nucléoles (*nu*). ($\times 10\,000$.)

FIG. c. — Portion de la figure précédente à plus fort grossissement. Les chromosomes (*Ch*) sont accolés au nucléole; les petites masses nucléolaires périphériques sont indiquées par des flèches. ($\times 19\,500$.)

FIG. d. — Autre aspect montrant les rapports qui existent entre le nucléole et les chromosomes (*Ch*). Les fragments nucléolaires sont situés en périphérie du nucléole ou au bord des chromosomes (flèches). ($\times 19\,500$.)

PLANCHE 12

EVOLUTION DU NUCLÉOLE AU STADE DIPLOTÈNE
ET AU DÉBUT DE LA DIACINÈSE

- FIG. a et b. — Au stade diplotène, le nucléole (*nu*) est creusé de grandes vacuoles. Les chromosomes (*Ch*) sont toujours accolés au nucléole et des masses nucléolaires (flèches) sont situées à leur périphérie. (Fig. a, $\times 10\ 000$; fig. b, $\times 23\ 000$.)
- FIG. c. — Au début de la diacinèse, les vacuoles ont disparu du nucléole (*nu*). Quelques masses nucléolaires (flèches) persistent encore au bord des chromosomes (*Ch*) qui se condensent. Un nouveau nucléole (*ns*) se forme en bordure des chromosomes et un grain de sécrétion (*G*) est apparu. ($\times 10\ 000$.)
- FIG. d. — Portion plus grossie de la figure précédente, montrant le nouveau nucléole sécréteur (*ns*) contre les chromosomes (*Ch*). *G*, grain de sécrétion. ($\times 23\ 000$.)
- FIG. e. — Nucléole (*ns*) à structure particulière en début de sécrétion. *G*, grains de sécrétion. ($\times 42\ 000$.)

PLANCHE 13

SÉCRÉTION NUCLÉOLAIRE

- FIG. a. — Dans le nucléole (*ns*) collé contre les chromosomes (*Ch*) en diacinèse, on reconnaît des grains de sécrétion (*G*) de différentes tailles. ($\times 10\ 000$.)
- FIG. b. — Portion plus grossie d'un noyau au même stade que dans la figure précédente. *ns*, nucléole en sécrétion; *Ch*, chromosomes; *G*, grains de sécrétion. ($\times 33\ 000$.)
- FIG. c. — A la fin de la diacinèse, les grains de sécrétion ont fusionné en une seule inclusion (*G*) qui s'est détachée des chromosomes (*Ch*). Remarquer les invaginations de la membrane nucléaire en face des asters (*As*). ($\times 10\ 000$.)

PLANCHE 14

CYTOCHIMIE DE LA SÉCRÉTION NUCLÉOLAIRE

FIG. a et b. — *Spermatocytes I* fixés au tétroxyde d'osmium.

- FIG. a. — Après action sur coupes de l'acide phosphotungstique pendant 5 minutes, les grains d'ascaridine du cytoplasme comme les grains de sécrétion (*G*) du nucléole (*ns*) sont presque entièrement dissous.
- FIG. b. — Après action sur coupe d'une solution diluée de potasse pendant 5 minutes, les grains d'ascaridine et les grains de sécrétion (*G*) ont complètement disparu.

FIG. c et d. — *Spermatocytes I* fixés au formol.

- FIG. c. — L'eau à 60° C, agissant pendant 5 minutes sur les coupes, extrait totalement l'ascaridine du grain de sécrétion nucléolaire (*G*) comme celle des grains à bâtonnet.
- FIG. d. — L'acide phosphotungstique, agissant sur les coupes, dissout également le grain de sécrétion (*G*), mais donne un fort contraste au bâtonnet (*bt*).
Ch, chromosomes en diacinèse; *ns*, nucléole sécréteur. ($\times 10\ 500$.)

PLANCHE 15

FIG. a, b et c. — ACHÈVEMENT DE L'ÉVOLUTION NUCLÉOLAIRE

FIG. a. — Au début de la diacinèse, le nucléole à grosses vacuoles (voir pl. 12) s'est fragmenté en petits nucléoles (*nu*) qui se disposent en bordure de la membrane nucléaire avant de disparaître. ($\times 8\,000$.)

FIG. b et c. — Désagrégation du grain de sécrétion nucléolaire (*G*) en granules de plus en plus petits. ($\times 8\,000$.)

FIG. d, e et f. — FORMATION DES ASTERS

FIG. d. — Après fixation au tétr oxyde d'osmium, la zone astérienne apparaît dépourvue d'organites; elle est bordée de petites vésicules ergastoplasmiques (*er*). Les centrioles (*ce*) sont entourés d'un archoplasme dense. ($\times 8\,000$.)

FIG. e. — Après fixation au permanganate, la substance archoplasmique n'est pas mise en évidence autour du centriole (*ce*). ($\times 8\,000$.)

FIG. f. — Vésicules ergastoplasmiques (*er*) bordant la zone astérienne dépourvue d'organites. Fixation au tétr oxyde d'osmium. ($\times 8\,000$.)

PLANCHE 16

FORMATION DES ASTERS (*suite*).

FIG. a. — Migration des asters. Après fixation au tétr oxyde d'osmium, la substance archoplasmique (*ar*) apparaît très dense. La membrane nucléaire est légèrement invaginée en face de chacun des asters. *Ch*, chromosomes. ($\times 8\,000$.)

FIG. b. — Après coloration de la coupe par l'acide phosphotungstique, les fibrilles astériennes sont mieux visibles. Les vésicules ergastoplasmiques (*er*) sont disposées en bordure du hyaloplasme astérien. La membrane nucléaire (*mn*) est vue tangentiellement. *ar*, archoplasme. ($\times 12\,500$.)

PLANCHE 17

SPERMATOCYTE I EN FIN DE PROPHASE

Vue d'ensemble d'un spermatocyte I peu avant la rupture de la membrane nucléaire. Les asters sont en place et ont repoussé les organites cytoplasmiques à leur périphérie. ($\times 7\,500$.)

PLANCHE 18

RUPTURE DE LA MEMBRANE NUCLÉAIRE

FIG a. — Début de la rupture de la membrane nucléaire en face des asters. ($\times 7\,500$.)

FIG. b. — A un stade plus avancé, la membrane nucléaire (*mn*) persiste seulement dans la région équatoriale. *nq*, nucléoplasme équatorial. ($\times 7\,500$.)

Ces micrographies sont obtenues avec des pièces fixées au tétr oxyde d'osmium et dont les coupes ne sont pas colorées. Les fibrilles astériennes et celles qui apparaissent dans le nucléoplasme sont peu contrastées. Comparer avec les 2 planches suivantes.

PLANCHE 19

RUPTURE DE LA MEMBRANE NUCLÉAIRE

Après coloration des coupes par l'acide phosphotungstique en solution alcoolique, les fibrilles astériennes et chromosomiques sont bien mises en évidence.

FIG. a. — Début de la fragmentation de la membrane nucléaire en face d'un aster (*As*). La région équatoriale de la membrane nucléaire est intacte, mais on y remarque une indentation très prononcée (flèche). Au niveau des centromères (*ctr*), la substance chromosomique apparaît plus dense. *Ch*, chromosomes. ($\times 15\ 000$.)

FIG. b. — Des portions de la membrane nucléaire donnent naissance à des vésicules qui se dilatent et deviennent très comparables aux vésicules ergastoplasmiques (flèches). *Ch*, chromosomes; *er*, vésicule ergastoplasmique. ($\times 15\ 000$.)

PLANCHE 20

EVOLUTION DU NUCLÉOPLASME

FIG. a. — Coupe un peu oblique par rapport à l'axe du fuseau. Le nucléoplasme présente deux régions : une région comprise entre la tétrade (*Ch*) et l'aster (*As*) qui a pris une structure fibreuse, et une région équatoriale (*nq*) où sont apparus des amas denses aux électrons. Les fibrilles astériennes s'étendent au-delà de l'aster (*As*) entre les mitochondries (*M*) et les grains à bâtonnet. Coloration à l'acide phosphotungstique. ($\times 10\ 000$.)

FIG. b. — Coupe équatoriale. Le nucléoplasme équatorial (*nq*) entoure les chromosomes (*Ch*). La coloration à l'acide phosphotungstique a provoqué une dissolution de l'ascaridine, mais le bâtonnet (*bt*) est devenu plus contrasté que le hyaloplasme. ($\times 10\ 000$.)

PLANCHE 21

SPERMATOCYTE I EN MÉTAPHASE

La membrane nucléaire (*mn*) a presque disparu. *nq*, nucléoplasme équatorial. ($\times 7\ 500$.)

PLANCHE 22

VUE GÉNÉRALE D'UN ASTER

Dans cette vue polaire prise chez un spermatocyte en métaphase, on reconnaît autour du diplosome, l'archoplasme, les fibrilles astériennes, une couronne de mitochondries (*M*) et les grains à bâtonnet. Les fibrilles astériennes se prolongent entre les organites (flèches). Les limites de l'archoplasme sont moins régulières et le centrosome a un aspect étoilé. ($\times 25\ 000$.)

PLANCHE 23

FIBRILLES ASTÉRIENNES ET FUSORIALES

FIG. a. — Fuseau achromatique. Le centriole (*ce*) est entouré d'archoplasme (*ar*) d'où rayonnent des fibrilles astériennes et chromosomiques qui ont toutes la même structure. ($\times 16\,500$.) L'échelle représente $2\,\mu$.

FIG. b. — A plus fort grossissement, les fibrilles du fuseau apparaissent comme des tubules de $150\text{ \AA}$ de diamètre à paroi osmiophile. ($\times 33\,000$.)

FIG. c. — Diplosome dans un spermatocyte I en métaphase. ($\times 100\,000$.)

PLANCHE 24

APPAREIL MITOTIQUE

FIG. a. — Spermatocyte I en métaphase, fixé au tétroxyde d'osmium et non coloré. Les fibrilles astériennes et chromosomiques ont un faible contraste. *As*, asters; *nq*, nucléoplasme équatorial. ($\times 10\,000$.)

FIG. b. — Spermatocyte I en métaphase, fixé au tétroxyde d'osmium et coloré par l'acide phosphotungstique au cours de la déshydratation. Les structures sont plus contrastées mais l'aspect général est moins bon, car des coagulations se sont faites au niveau des fibrilles du fuseau. *As*, asters; *Ch*, chromosomes. ($\times 10\,000$.)

PLANCHE 25

STRUCTURES CHROMOSOMIQUES

Les micrographies de cette planche et de la suivante proviennent de spermatocytes I prélevés chez un animal ayant séjourné 24 heures dans du sérum physiologique à 37°C . Fixation au tétroxyde d'osmium.

FIG. a. — Tétrade dont une partie de la substance chromosomique a pris une structure lamellaire. On peut voir, au niveau des flèches, la continuité entre les lames et la substance des chromosomes. ($\times 33\,000$.)

FIG. b. — Vue à un plus fort grossissement des lames chromosomiques dont certaines sont disposées en anneaux concentriques. ($\times 53\,000$.)

PLANCHE 26

STRUCTURES CHROMOSOMIQUES

FIG. a et b. — Chromosomes en anaphase. Les lames sont apparues à l'opposé des régions polaires. Sur la figure a, on remarque une barre dense aux électrons qui représente peut-être la substance archoplasmique. *M*, mitochondries. ($\times 12\,500$.)

FIG. c. — A fort grossissement, chaque lame chromosomique apparaît constituée de deux membranes de $50\text{ \AA}$ d'épaisseur, séparées par un espace clair. ($\times 100\,000$.)

PLANCHE 27

FIBRILLES INTERZONALES

Vue d'ensemble d'un spermatocyte I au début de la cytodiérèse. Entre les chromosomes en anaphase, on distingue les faisceaux de fibrilles interzonales (*fi*) ainsi que les restes du nucléoplasme équatorial (*nq*). Le fuseau achromatique est en voie de désorganisation; le sillon de division est dissymétrique. ($\times 7\,500$.)

PLANCHE 28

FIBRILLES INTERZONALES (*suite*).

Vue plus grossie de la planche précédente. De petites vacuoles ergastoplasmiques (*er*) prennent naissance au niveau des zones denses du nucléoplasme équatorial (*nq*). *Ch*, chromosomes; *fi*, fibrilles interzonales; *M*, mitochondries. ($\times 16\,500$.)

PLANCHE 29

FIBRILLES INTERZONALES (*fin*).

Fig. a. — Les faisceaux de fibrilles interzonales (*fi*) sont visibles entre les bords du sillon de division. Les grains à bâtonnet commencent à occuper la région interzonale. *Ch*, chromosomes; *nq*, nucléoplasme équatorial. ($\times 16\,500$.)

Fig. b. — Certains faisceaux de fibrilles interzonales (*fi*) présentent des ondulations (flèches). Les fibrilles du fuseau achromatique sont devenues plus courtes et enchevêtrées. *Ch*, chromosomes. ($\times 16\,500$.)

PLANCHE 30

TÉLOPHASE ET DÉBUT DE LA SECONDE DIVISION DE MATURATION

Fig. a et b. — A la télophase, le fuseau est désorganisé. Il apparaît une barre dense transversale provenant sans doute de la substance archoplasmique et contre laquelle viennent s'appuyer les chromosomes (*Ch*). *M*, mitochondries. (Fig. a, $\times 27\,000$; fig. b, $\times 17\,000$.)

Fig. c. — Au début de la seconde division, les deux centrosomes sont reliés par une centrodosome d'archoplasme. ($\times 13\,000$.)

PLANCHE 31

CYTODIÉRÈSE DE PREMIÈRE DIVISION

Fig. a. — Achèvement de la cytodiérèse. Entre les spermatocytes II, persiste encore un pont cytoplasmique contenant des fibrilles interzonales (*fi*). Un nouvel aster (*As*) s'organise. Remarquer les villosités pustuleuses à la surface du sillon de division qui est très dissymétrique. *Ch*, chromosomes; *ar*, archoplasme. ($\times 8\,000$.)

Fig. b. — Les deux spermatocytes II viennent de se séparer. De nombreuses villosités (*v*) allongées sont apparues au niveau de l'ancien sillon de division. Les centrosomes sont dédoublés. *Ch*, chromosomes. ($\times 8\,000$.)

PLANCHE 32

SECONDE DIVISION DE MATURATION

FIG. a. — Début de l'anaphase de la seconde division. Les chromosomes (*Ch*) laissent derrière eux des traînées plus ou moins développées. La région interzonale (*ri*) montre des amas denses aux électrons, comme lors de la première division, mais il ne se forme pas de fibrilles. En périphérie des cellules, s'organisent des vésicules du réticulum endoplasmique (*er*). ($\times 8\,000$.)

FIG. b. — Après la séparation des cellules, les organites réoccupent la région interzonale. Les chromosomes semblent tirés par les fibrilles chromosomiques du fuseau. *er*, réticulum endoplasmique. ($\times 8\,000$.)

PLANCHE 33

FIN DE LA SECONDE DIVISION DE MATURATION

Deux spermatides viennent de se séparer. Des villosités (*v*) sont apparues au niveau de l'ancien sillon de division et un réticulum endoplasmique (*er*) s'organise dans le cytoplasme périphérique. *Ch*, chromosomes; *M*, mitochondries. ($\times 7\,500$.)

PLANCHE 34

JEUNE SPERMATIDE

La seconde division de maturation est à peine terminée. Les deux chromosomes (*Ch*) achèvent leur ascension polaire. On peut voir le fuseau et les deux centrioles (*ce*) au centre de l'aster qui polarise les mitochondries (*M*) et les grains à bâtonnet. A côté de certains grains à bâtonnet, on reconnaît le petit dictyosome (*g*) collé contre le chapeau golgien. D'autres dictyosomes se sont séparés du chapeau golgien et sont venus se placer en périphérie de la spermatide, plus particulièrement au niveau de l'ancien sillon de division où les villosités (*v*) sont nombreuses. Dans le cytoplasme périphérique s'édifie un réticulum endoplasmique (*er*); *g*, dictyosome. ($\times 12\,500$.)

PLANCHE 35

FORMATION DU DISQUE CYTOPHORAL

FIG. a. — Une coupe dans un plan perpendiculaire à l'axe du fuseau montre, dans une jeune spermatide, l'aster avec un centriole (*ce*) entouré d'archoplasme. La polarisation des organites cytoplasmiques est ici particulièrement spectaculaire. Les mitochondries *M* sont disposées en couronne au centre et les grains à bâtonnet sont plus externes. *er*, réticulum endoplasmique. ($\times 8\,000$.)

FIG. b. — Le réticulum s'organise en un système ergastoplasmique (*er*) à lames parallèles. La forte densité des grains RNP donne un aspect plus sombre à cette région. Les deux chromosomes *Ch* sont parvenus au centre de la spermatide et commencent à se fusionner. ($\times 8\,000$.)

PLANCHE 36

FORMATION DU DISQUE CYTOPHORAL (*suite*).

FIG. a. — Organisation de l'ergastoplasme en périphérie de la spermatide. ($\times 8\,000$.)

FIG. b. — Le disque cytophoral est différencié. On remarque de nombreuses villosités (*v*) à sa surface, alors que le reste de la spermatide en est dépourvu. Le noyau (*N*) se condense et certaines de ses régions deviennent très opaques. ($\times 8\,000$.)

PLANCHE 37

ELIMINATION DU CYTOPHORE

FIG. a. — Le disque cytophoral fait saillie à la surface de la spermatide. *v*, villosités. ($\times 8\,000$.)

FIG. b. — Le cytophore est éliminé mais reste encore relié à la spermatide par un pont cytoplasmique. Le noyau (*N*) est très condensé et un centriole (*ce*) est situé près de lui. ($\times 8\,000$.)

FIG. c. — Un plus fort grandissement de la figure précédente montre le noyau (*N*) très dense entouré d'une couronne sombre qui représente peut-être une extrusion nucléaire. *ce*, centriole. ($\times 22\,000$.)

FIG. d. — Après fixation au permanganate, les dictyosomes qui sont éliminés dans le cytophore se distinguent plus facilement. ($\times 40\,000$.)

PLANCHE 38

CYTOPHORE

FIG. a. — Cytophore venant d'être rejeté de la spermatide. La lumière des vésicules ergastoplasmiques est devenue plus large et des communications se sont faites entre certaines cavités. *g*, dictyosomes. ($\times 17\,500$.)

FIG. b. — Cytophore plus âgé. Des sphères de hyaloplasme, remplies de grains RNP, baignent maintenant dans de larges cavités ergastoplasmiques. ($\times 17\,500$.)

PLANCHE 39

PHAGOCYTOSE DES CYTOPHORES

FIG. a. — Cellule de la paroi testiculaire remplie de vacuoles de phagocytose. Dans une large vacuole, le cytophore (*cyt*) prend un aspect granuleux et des membranes commencent à s'y former. Les autres vacuoles, plus petites, ont un contenu qui se sépare en deux phases. *spt*, portion de spermatide. ($\times 4\,500$.)

FIG. b. — Portion de cellule de la paroi testiculaire. Dans la vacuole 1, le cytophore a une structure granuleuse. Dans les vacuoles de type 2, on distingue la phase à prédominance phospholipidique, possédant de nombreuses membranes, et la phase claire homogène. En 3, des structures myéliniques apparaissent. ($\times 6\,000$.)

FIG. c. — Structure myélinique dans une vacuole de phagocytose. ($\times 25\,000$.)

FIG. d. — Fort grandissement montrant les membranes parallèles dans une structure myélinique. ($\times 50\,000$.)

PLANCHE 40

FORMATION DU CÔNE RÉFRINGENT

FIG. a. — Spermatide fixée au permanganate de potassium. Autour du noyau (*N*) sont disposées les mitochondries globuleuses (*M*). Les saccules golgiens dilatés (*sd*) qui formaient le chapeau des grains à bâtonnet se sont séparés de ces derniers et se portent en périphérie de la cellule. Ils apparaissent en clair, car la substance lipidique qu'ils contenaient a été dissoute au cours de la déshydratation. Les grains d'ascaridine ont maintenant une forme sphérique. ($\times 8\,000$.)

FIG. b. — Spermatide fixée au tétroxyde d'osmium. On reconnaît les mêmes éléments que sur la figure a. Les chapeaux golgiens (*sd*) des grains à bâtonnet ont un contenu dense. Les grains d'ascaridine commencent à se fusionner. *N*, noyau. ($\times 8\,000$.)

PLANCHE 41

FIG. a et b. — FORMATION DU CÔNE RÉFRINGENT (suite)

FIG. a. — Les grains d'ascaridine, en se fusionnant, forment des inclusions de plus en plus grosses. *M*, mitochondries; *N*, noyau. ($\times 5\,300$.)

FIG. b. — La fusion des grains d'ascaridine est plus avancée, mais l'évolution ne va pas au-delà dans le testicule; c'est même ici une exception, la majorité des spermatides ne dépassant pas le stade de la figure a. Des tiges fibreuses (*T*) provenant de la condensation de la substance des bâtonnets sont situées entre les mitochondries (*M*). *N*, noyau. ($\times 5\,300$.)

FIG. c et d. — PSEUDOPODES DES SPERMATIDES

Les pseudopodes (*ps*) sont formés d'un hyaloplasme osmiophile à structure fibreuse. *M*, mitochondries; *sd*, saccules golgiens; *T*, tiges fibreuses. ($\times 8\,000$.)

PLANCHE 42

FIG. a, b et c. — SPERMATOZOÏDES

FIG. a. — Spermatozoïde dans le sommet de l'utérus. Tous les grains d'ascaridine se sont fusionnés pour former le cône réfringent (*cr*). Celui-ci est entouré d'une membrane, et des diverticules tubulaires du hyaloplasme pénètrent dans la masse d'ascaridine (flèches). En périphérie du cône sont disposés les saccules golgiens (*sd*) qui coiffaient les grains à bâtonnet; ils sont l'équivalent de granules proacrosomiens. *M*, mitochondries. ($\times 7\,500$.)

FIG. b et c. — Portions du cône réfringent (*cr*) montrant les granules proacrosomiens à sa périphérie. ($\times 25\,000$.)

Sur ces trois clichés, le contraste du cône réfringent est différent, car la coloration par l'acide phosphotungstique a été plus ou moins longue selon les cas.

FIG. d. — SPERMATOLYSE INTRA-UTÉRINE

Spermatozoïde en voie de dégénérescence dans l'utérus. Le cône réfringent a disparu, mais la membrane qui l'entourait persiste encore (flèches). Les longues villosités d'une cellule (*cpu*) de la paroi utérine capturent le spermatozoïde. *M*, mitochondries; *sd*, granules proacrosomiens. ($\times 8\,000$.)

PLANCHE 43

SPERMATOLYSE INTRA-UTÉRINE (*suite*).

FIG. a. — Vue d'ensemble montrant deux spermatozoïdes en voie de lyse. Le cytoplasme de leur couronne est très dilaté; ils sont accrochés à une cellule de la paroi utérine (*cpu*) par des digitations qui s'imbriquent étroitement. La membrane qui limitait le cône réfringent est encore visible (flèches). *M*, mitochondries; *N*, noyaux; *sd*, granules proacrosomiens. ($\times 7\,300$.)

FIG. b. — Au niveau de l'imbrication du spermatozoïde (*spz*) et de la cellule utérine (*cpu*), on distingue les deux membranes cellulaires qui s'affrontent (flèches). ($\times 21\,000$.)

PLANCHE 44

FÉCONDATION

FIG. a. — Spermatozoïde pénétrant dans l'ovocyte. Le cône réfringent est déjà dissous. Autour du noyau (*N*) du spermatozoïde sont disposés les mitochondries (*M*). La membrane vitelline (*mvi*) est interrompue dans la zone de pénétration. *sd*, granules proacrosomiens. ($\times 7\,500$.)

FIG. b. — Spermatozoïde ayant pénétré presque entièrement dans l'ovocyte. Le cône réfringent (*cr*) est en voie de dissolution. La matrice des mitochondries (*M*) est devenue plus claire, et de nombreux granules RNP soulignent les contours du spermatozoïde. *mvi*, membrane vitelline; *sd*, granules proacrosomiens. ($\times 8\,000$.)

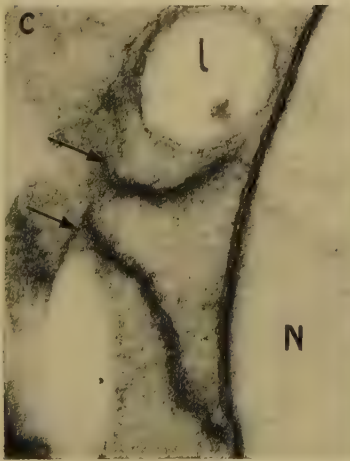
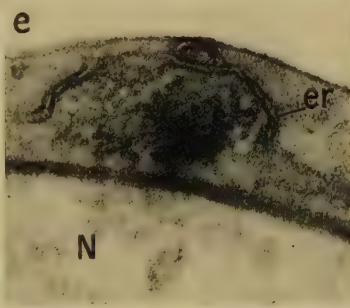
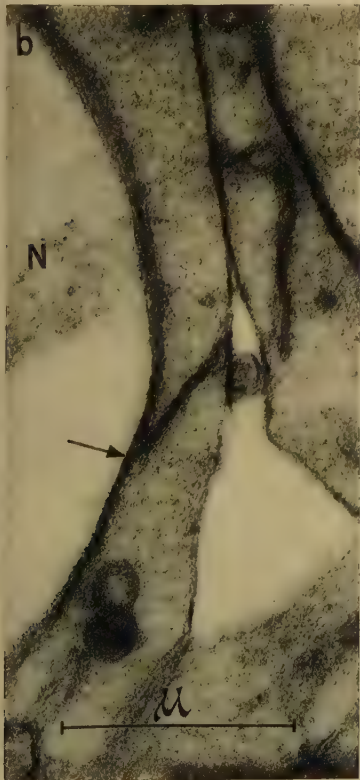
— Laboratoire de Synthèse atomique et d'Optique protonique du C. N. R. S., Ivry-sur-Seine.

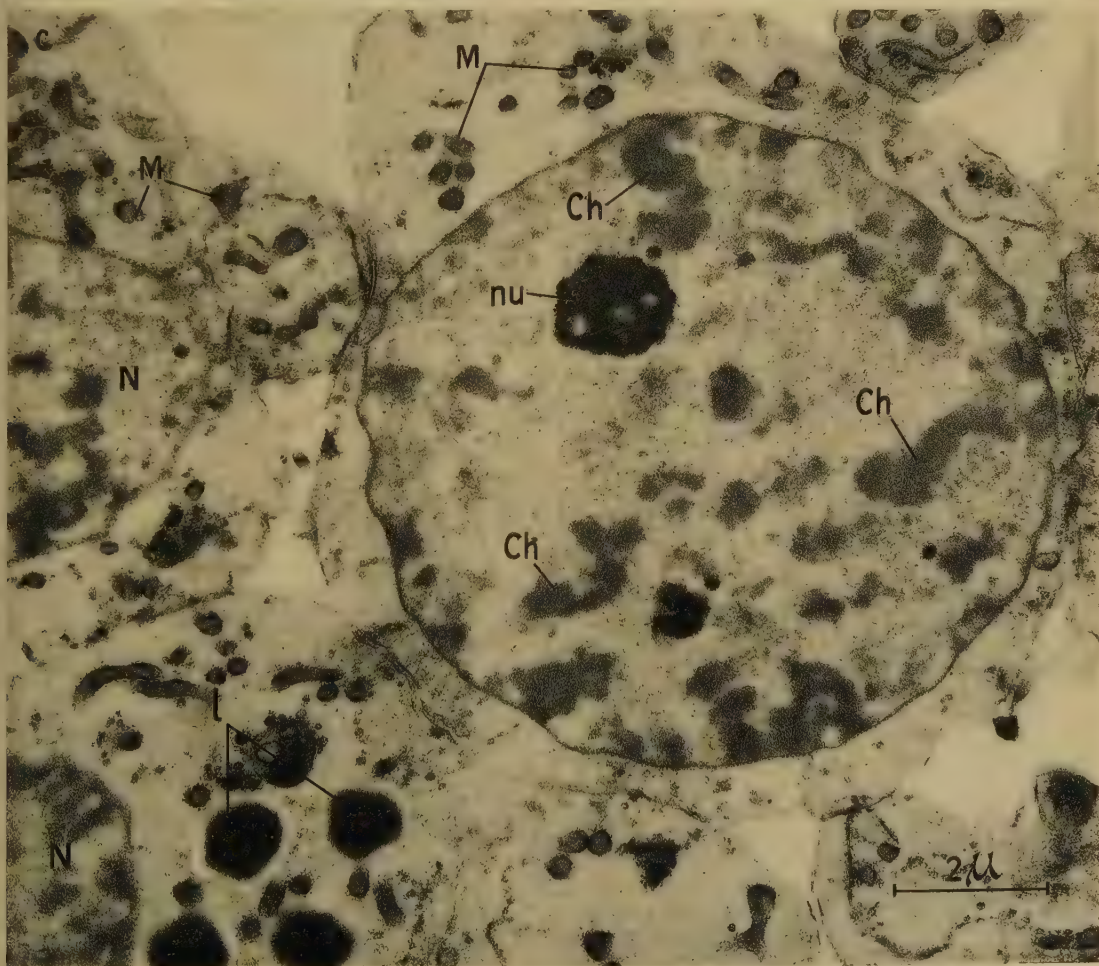
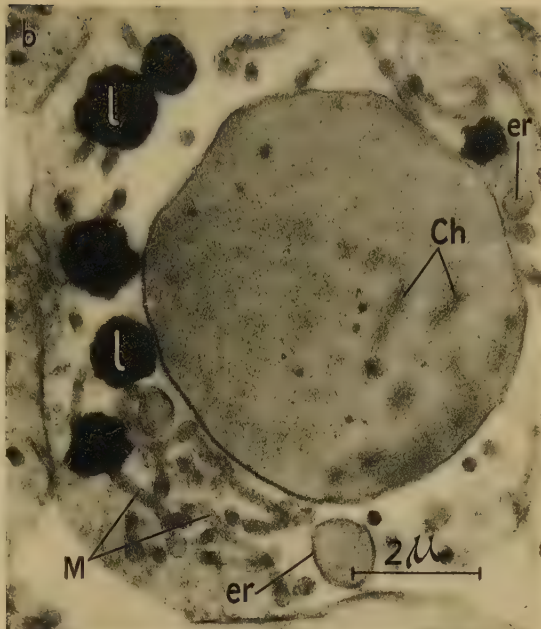
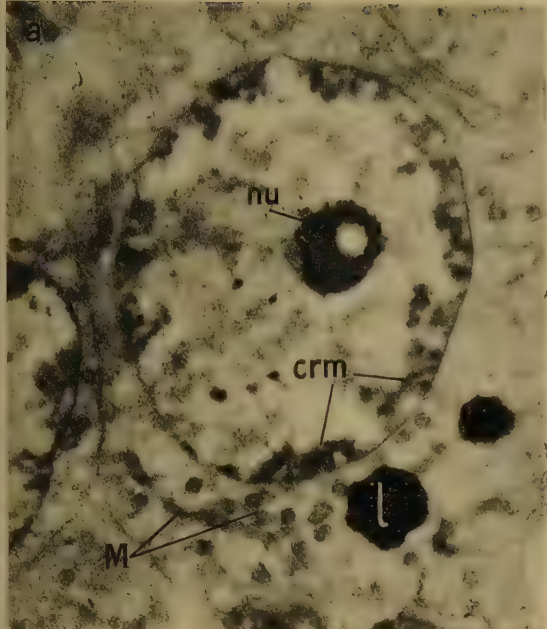
— Laboratoire de Botanique de l'École Normale Supérieure, Paris.

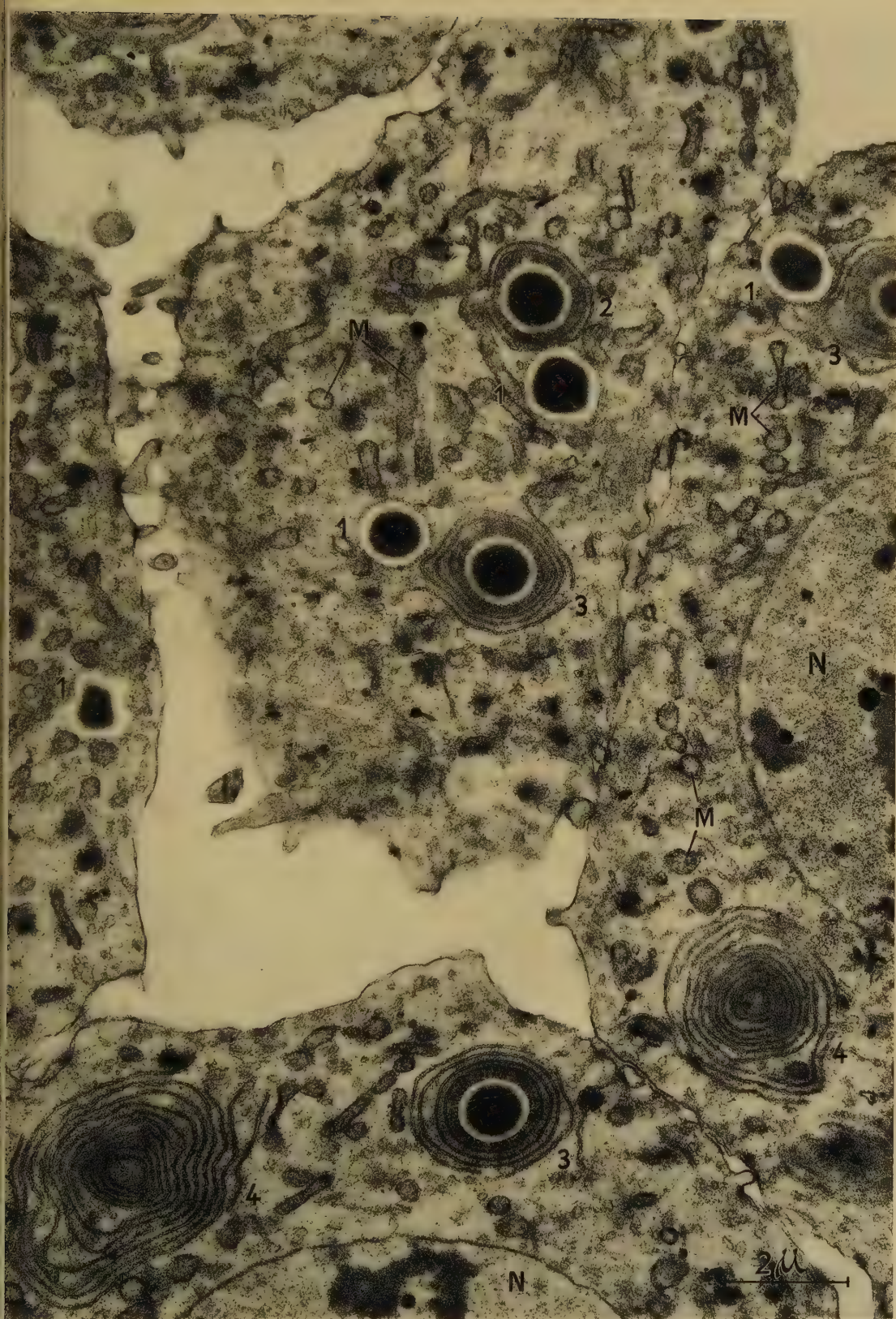
— Laboratoire de Physique atomique et moléculaire, Collège de France, Paris.

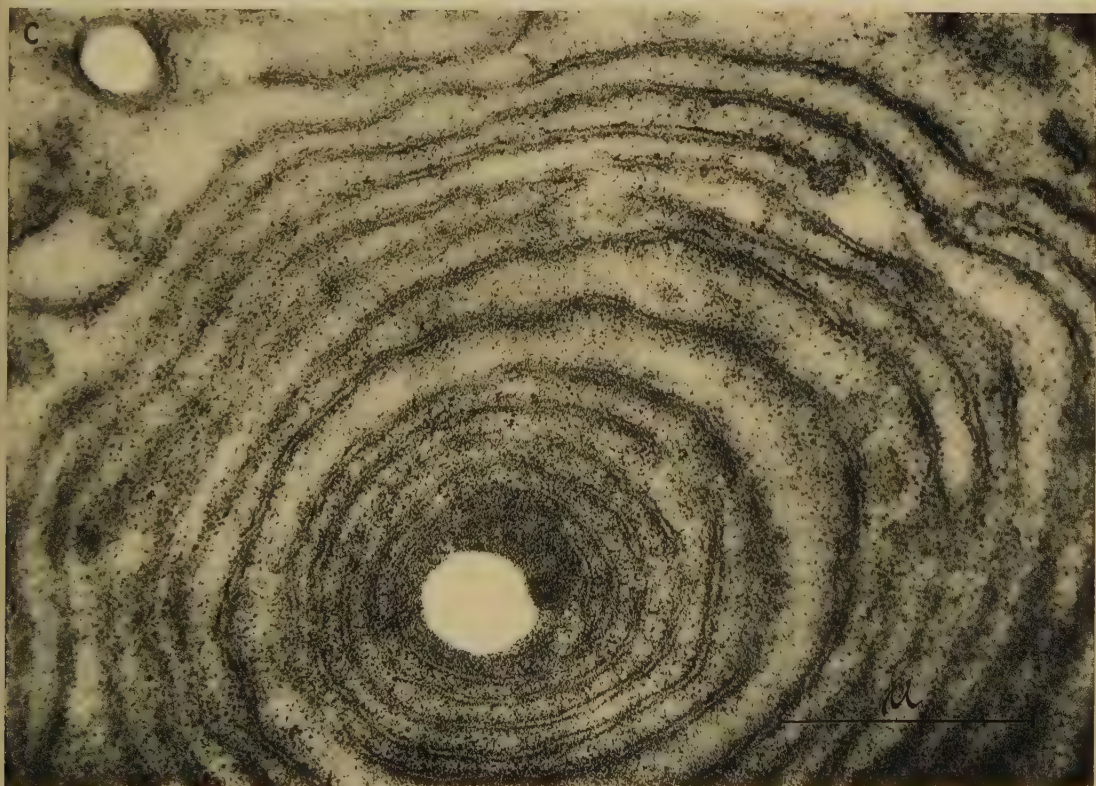
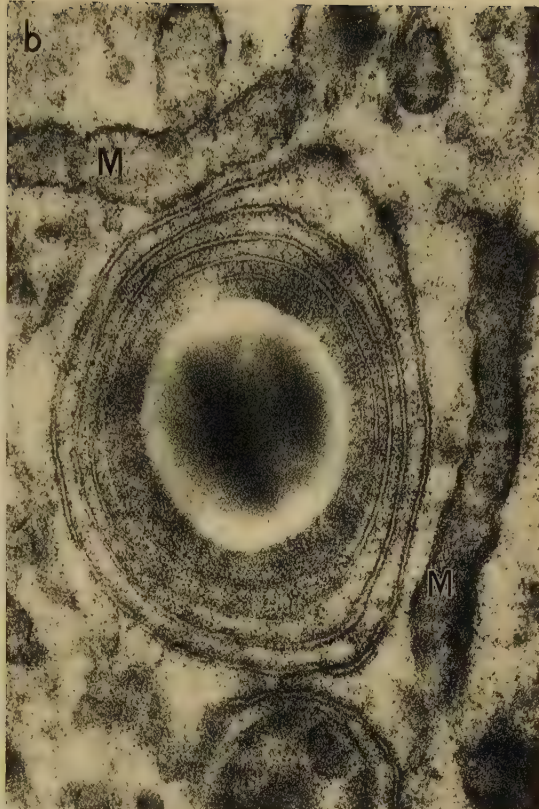
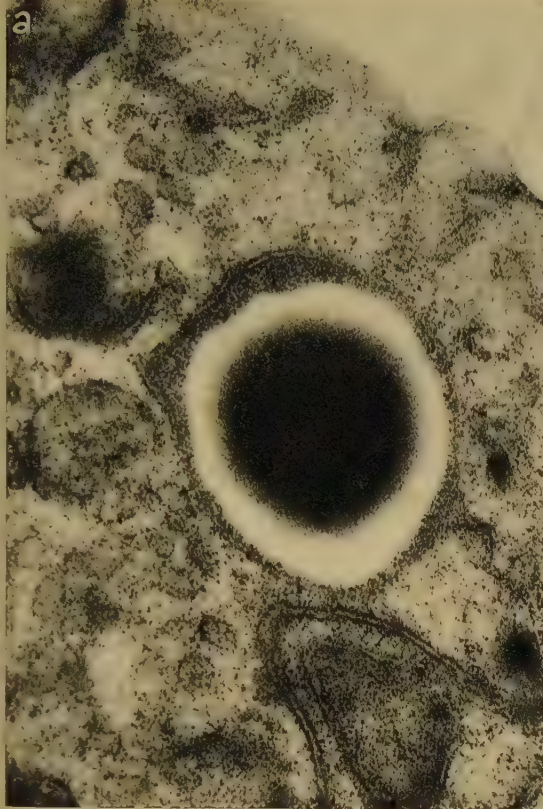
— Laboratoire de Biologie animale, P. C. B. VI, Faculté des Sciences, Paris.

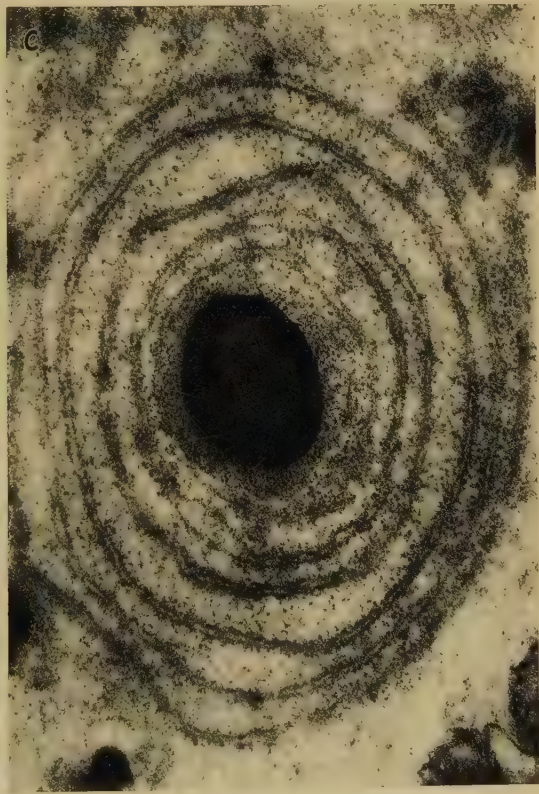
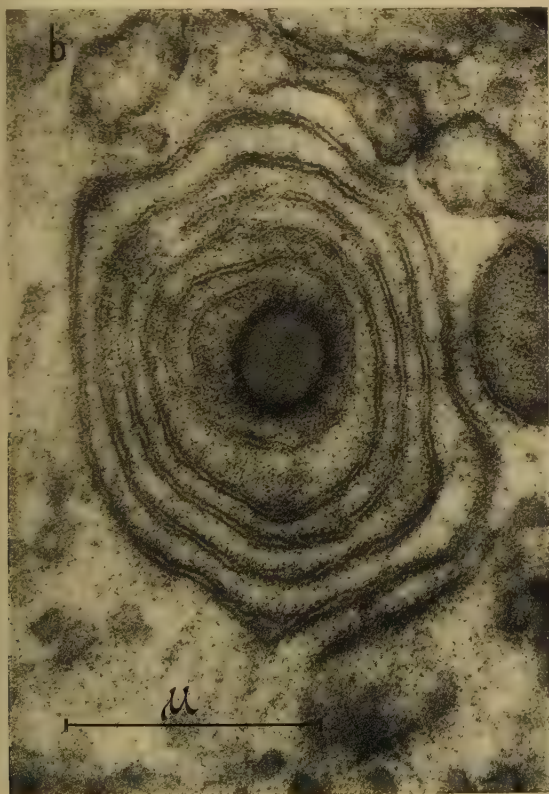
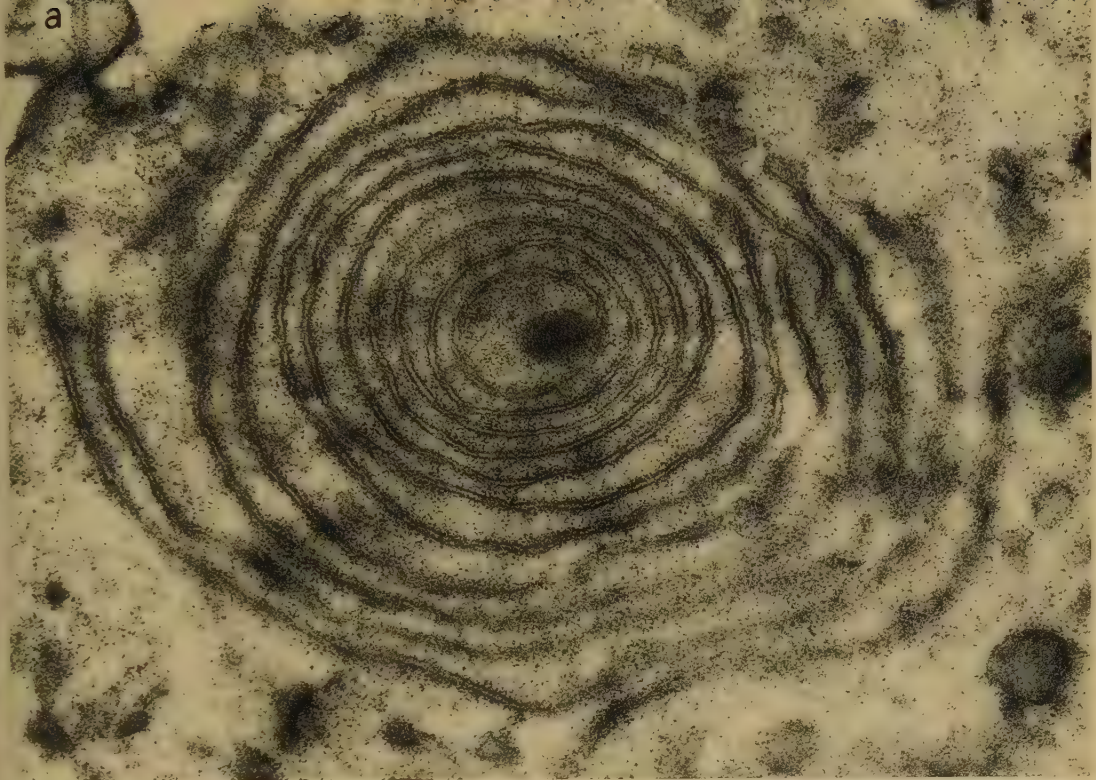
Adresse actuelle : Laboratoire de Synthèse atomique et d'Optique protonique du C. N. R. S., 67, rue Maurice-Gunsbourg, Ivry-sur-Seine (Seine).

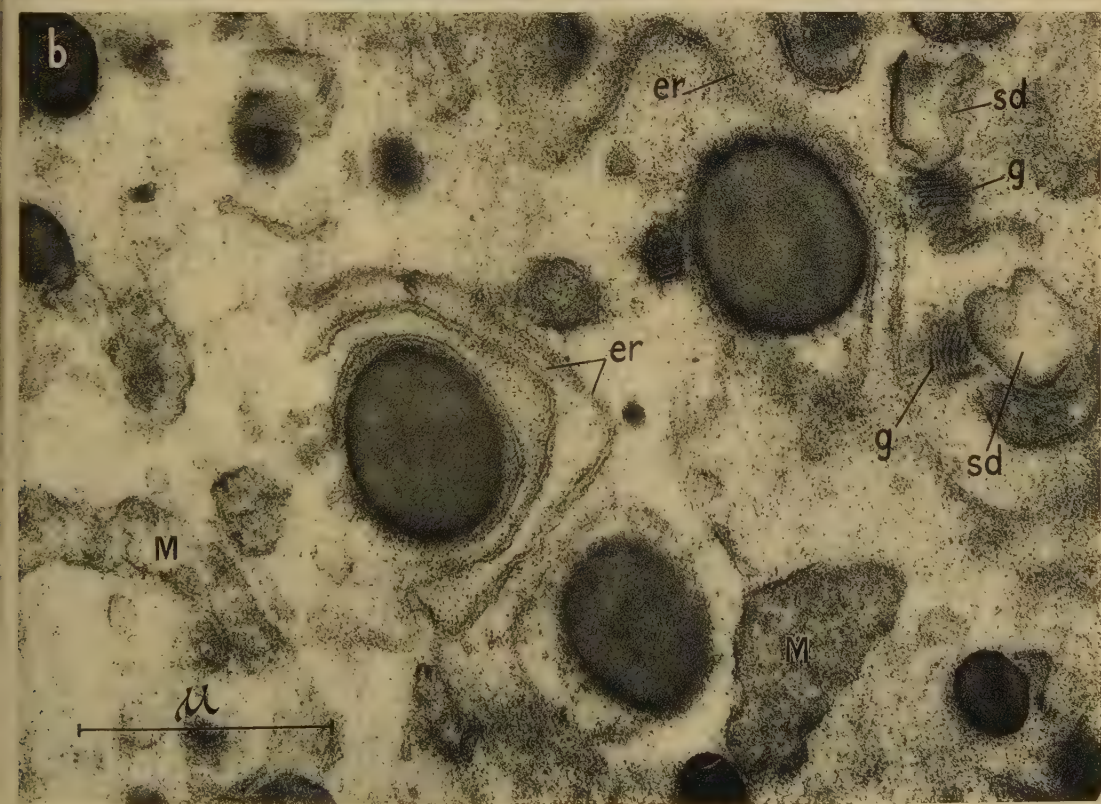
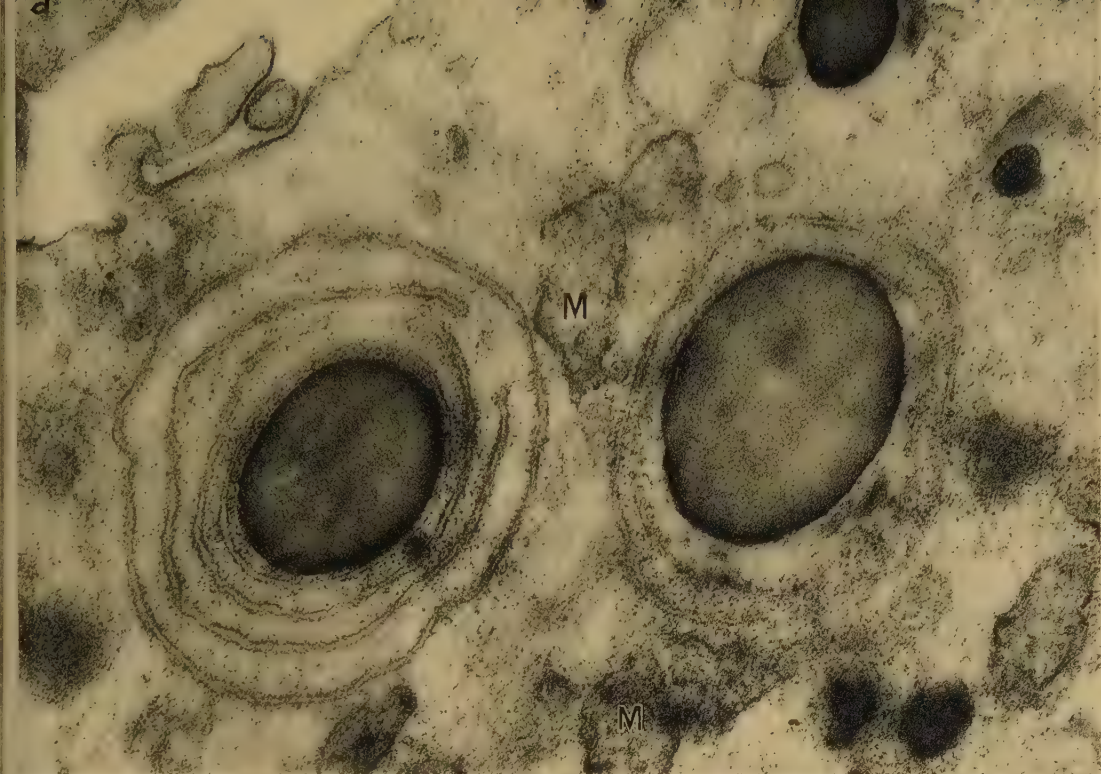


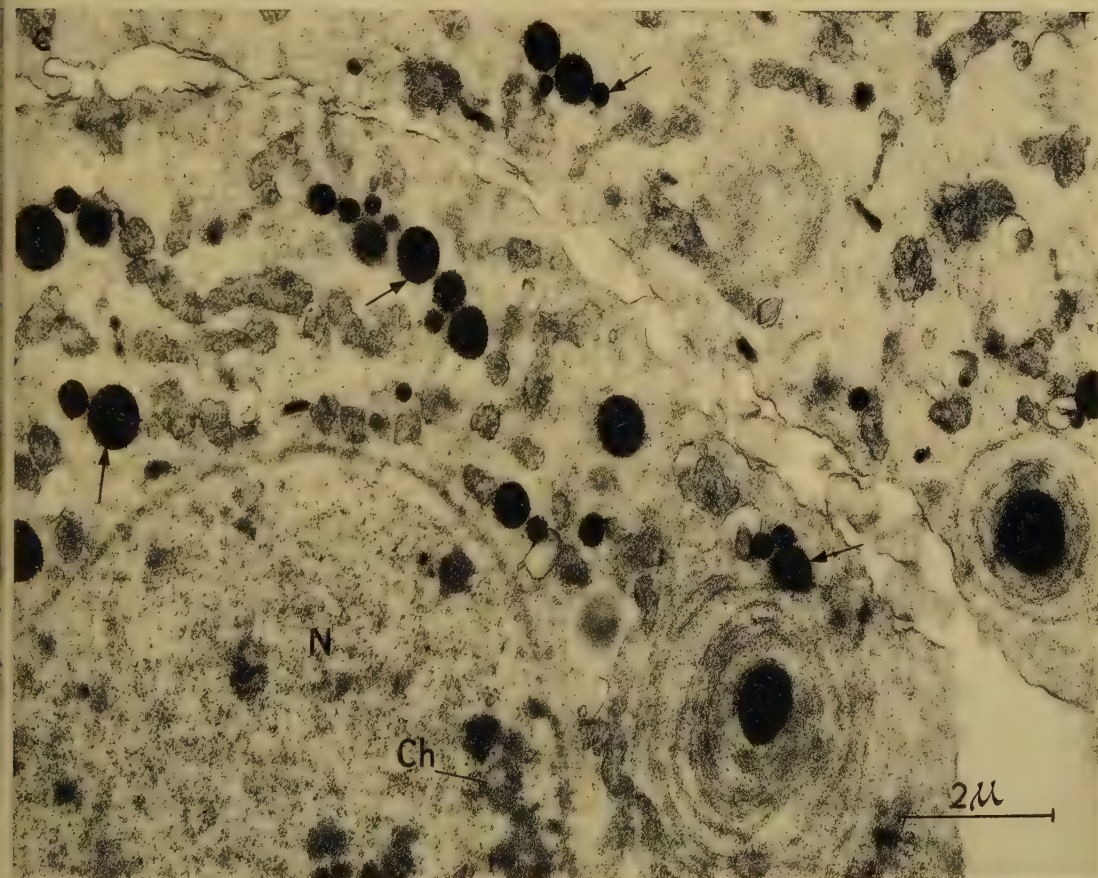
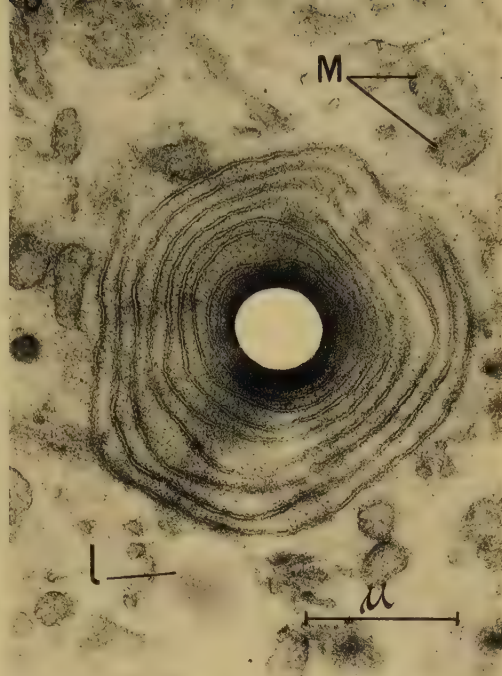
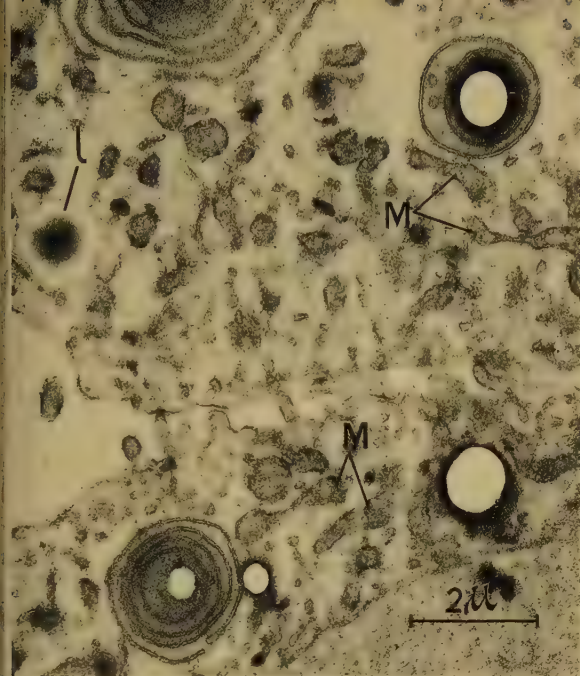


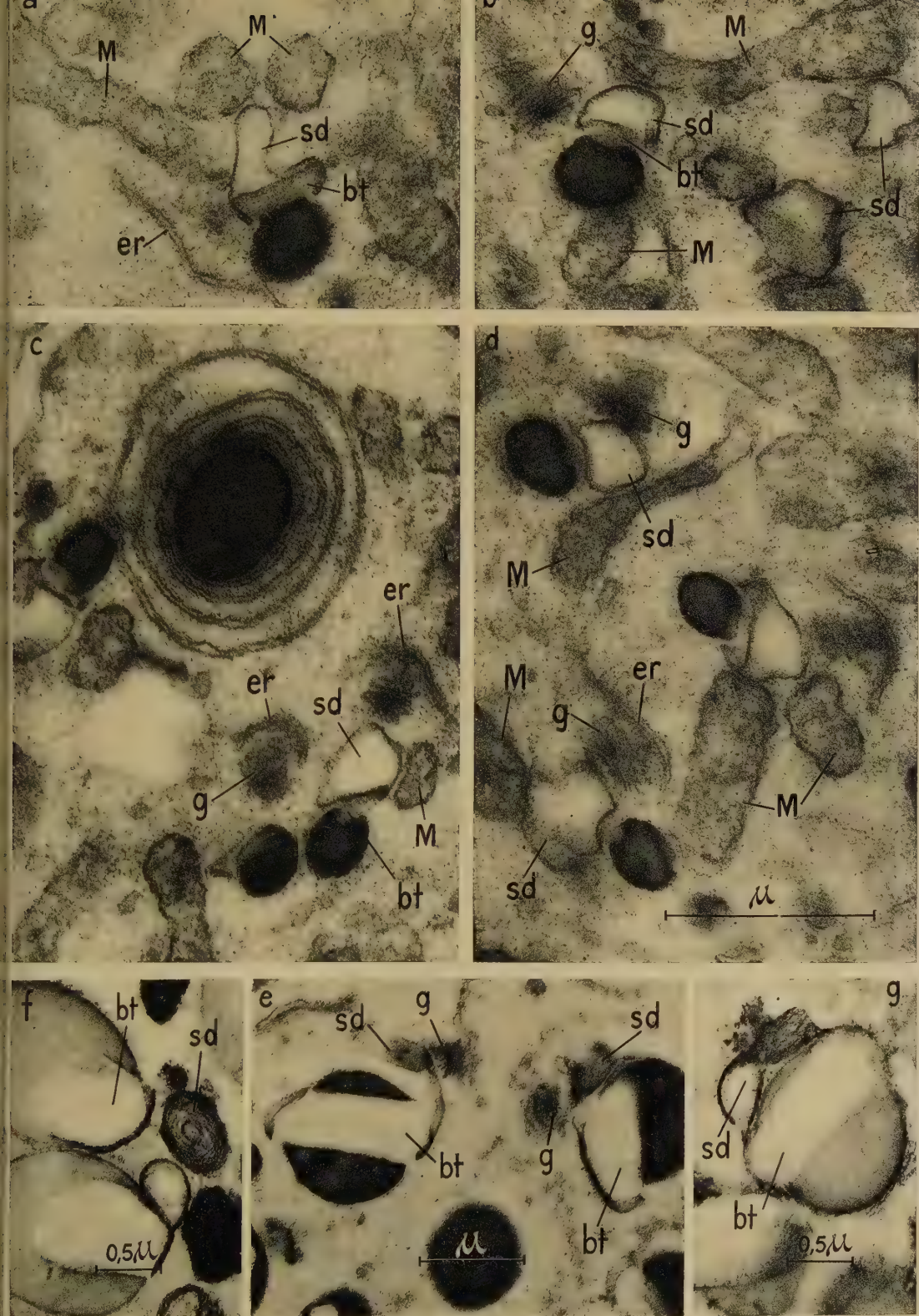


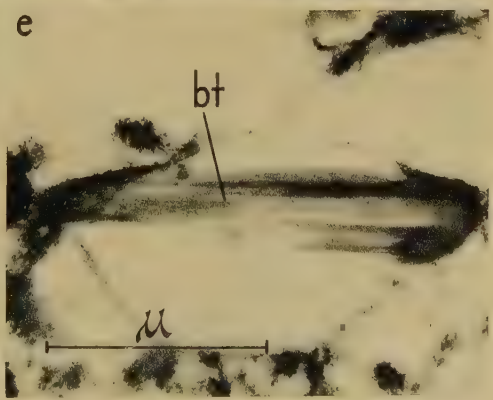
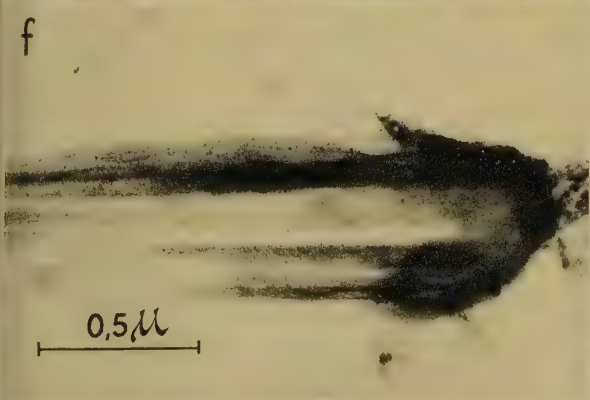
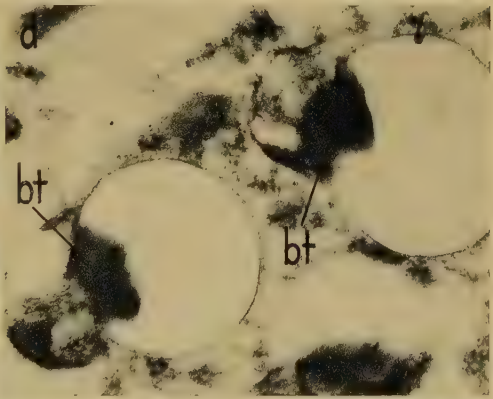
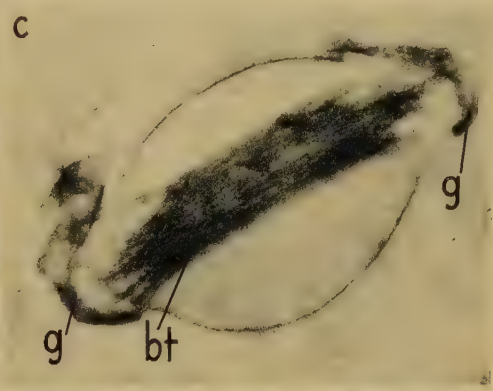
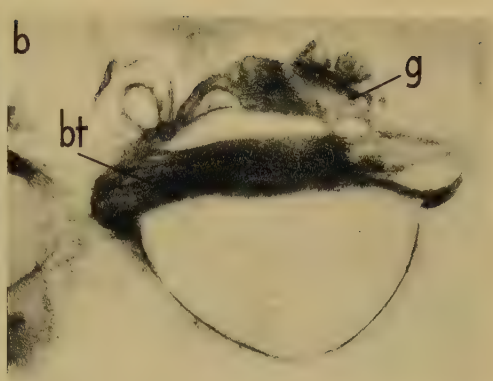
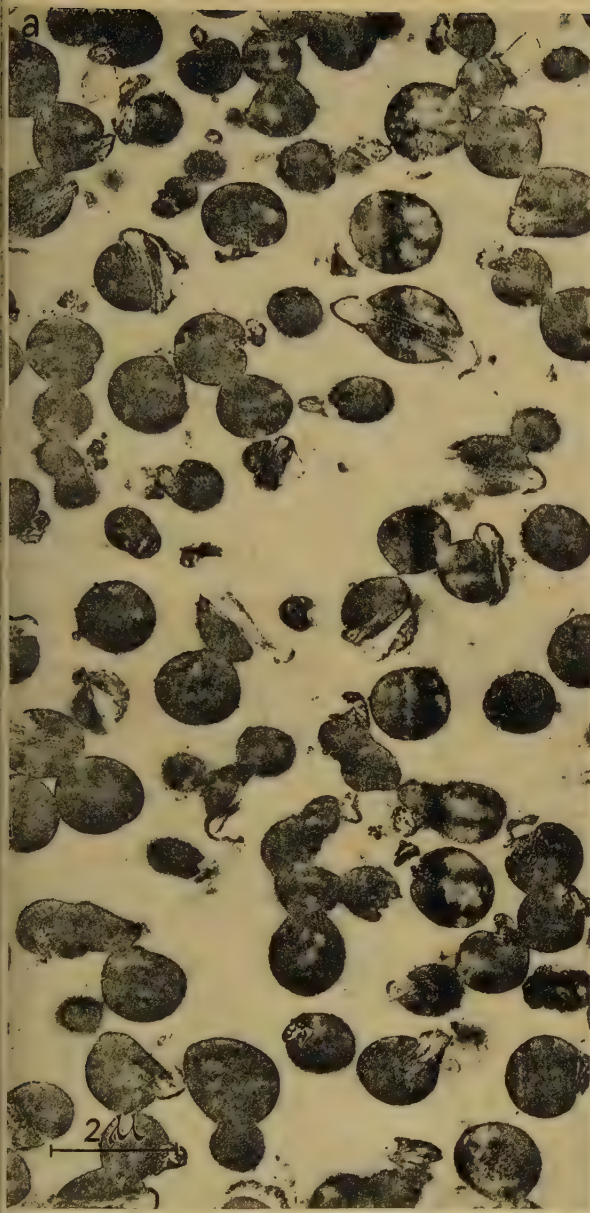


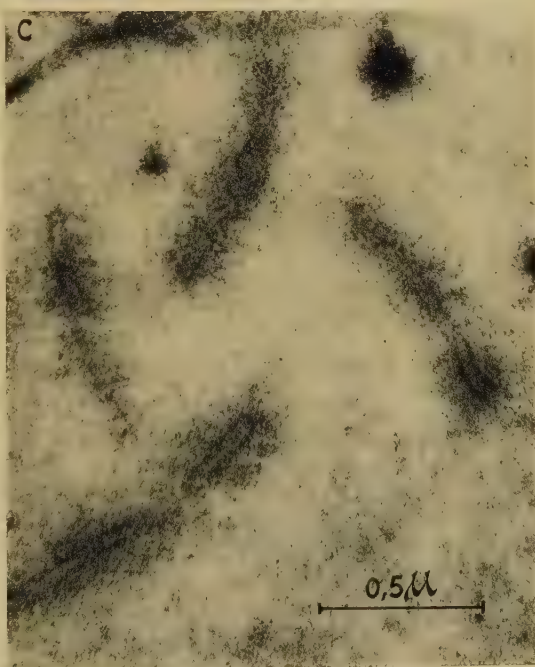
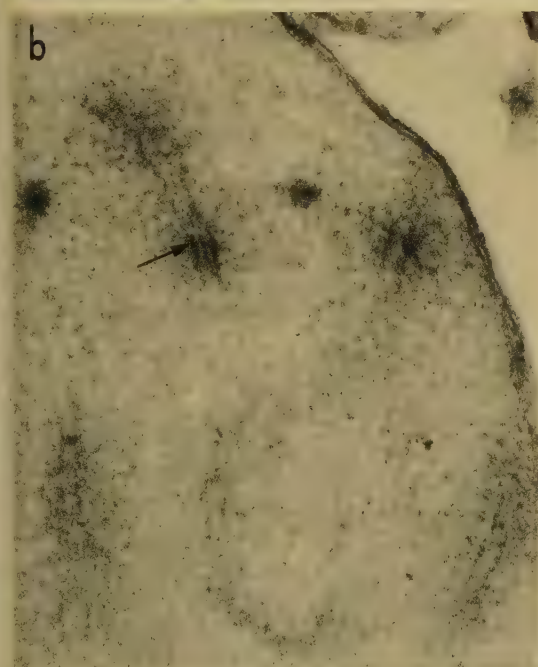
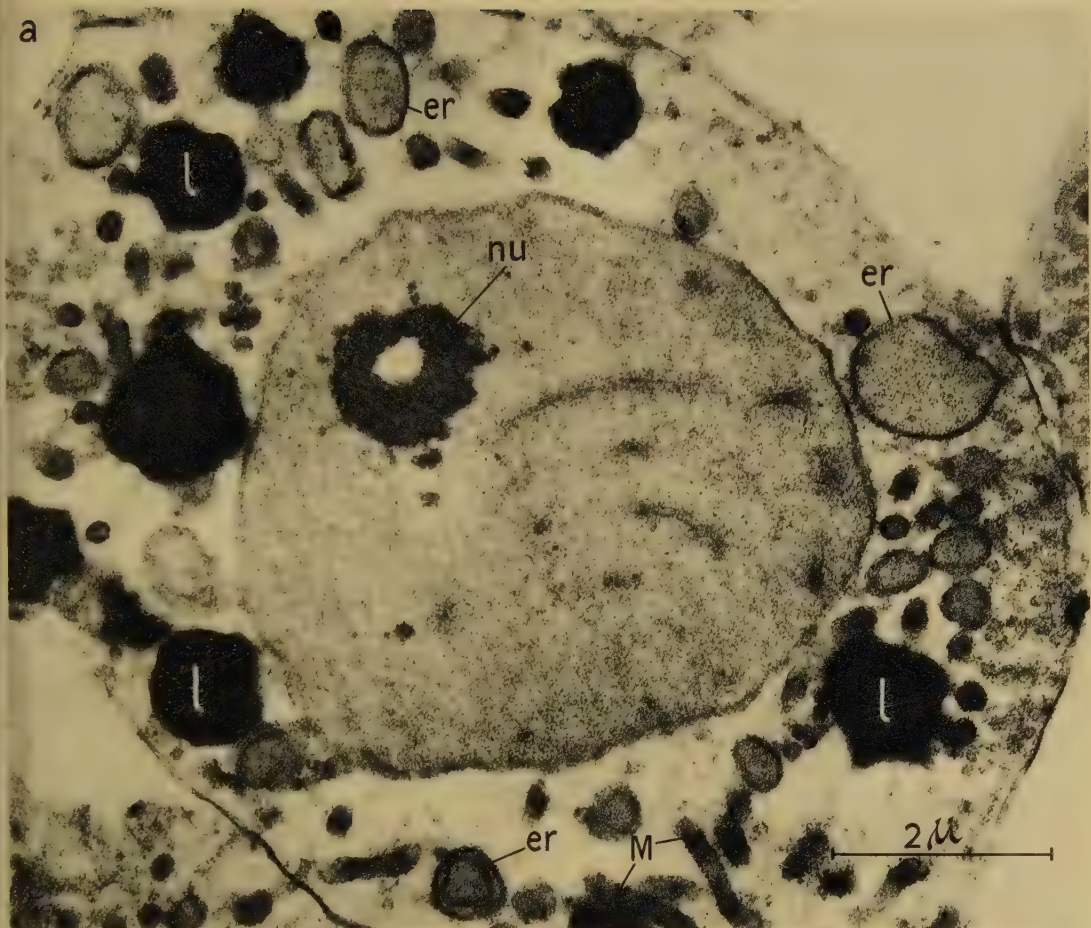


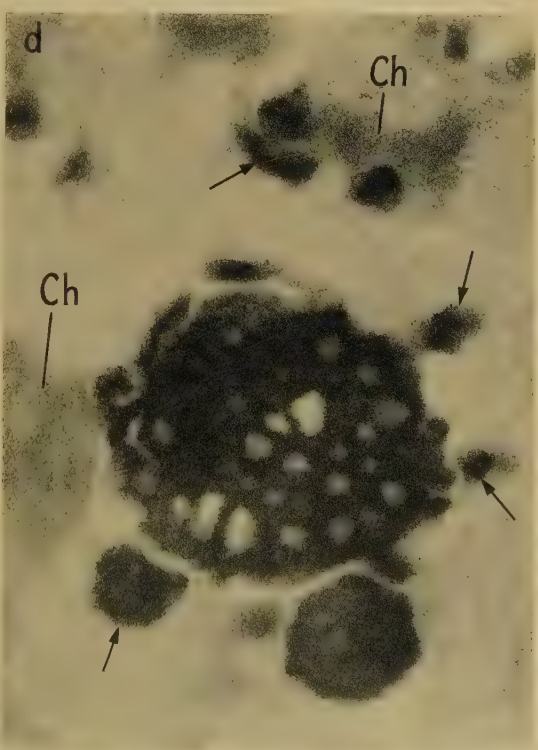
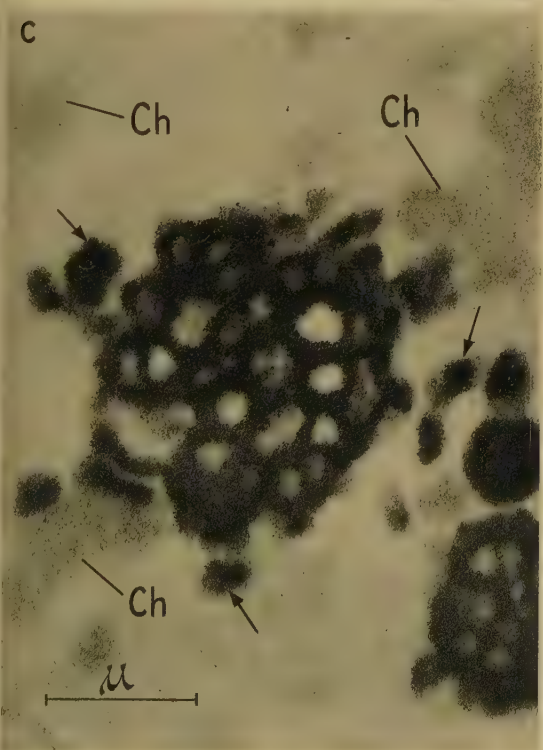
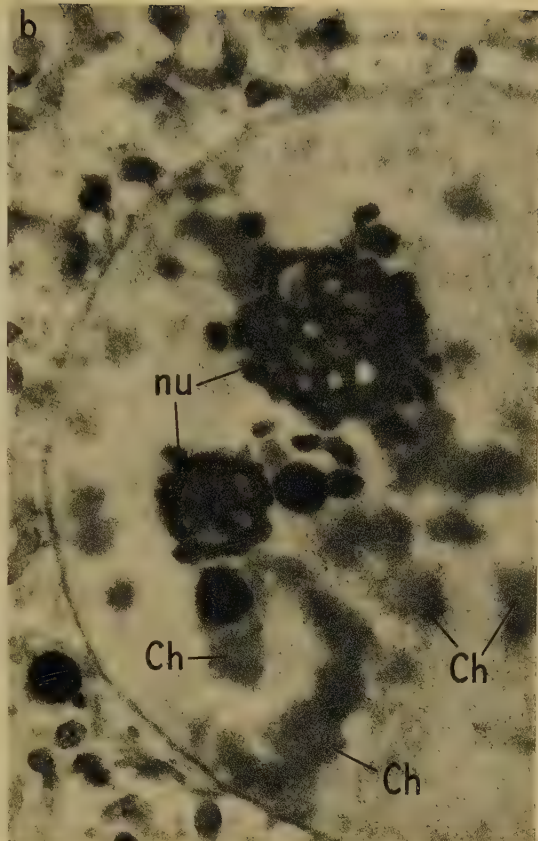
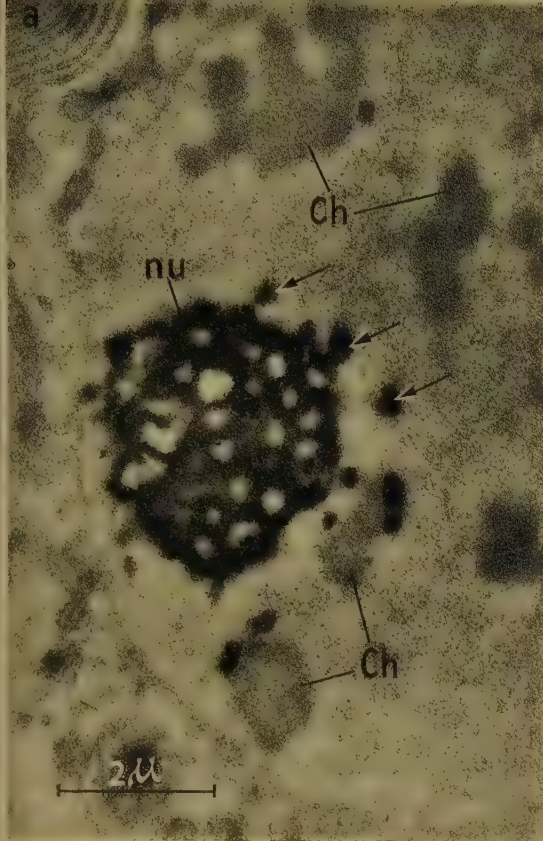


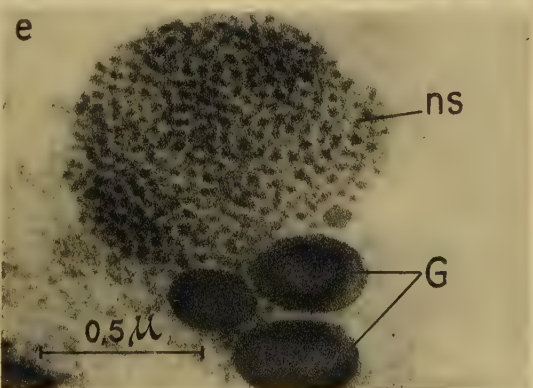
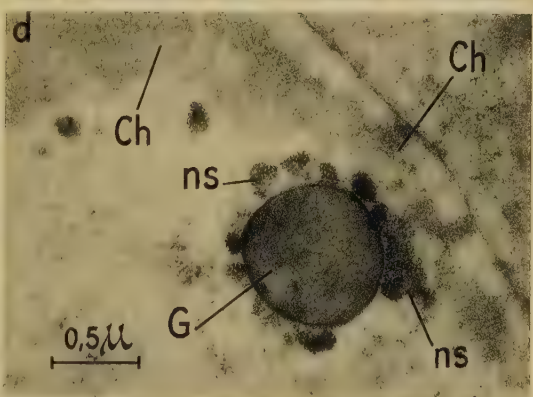
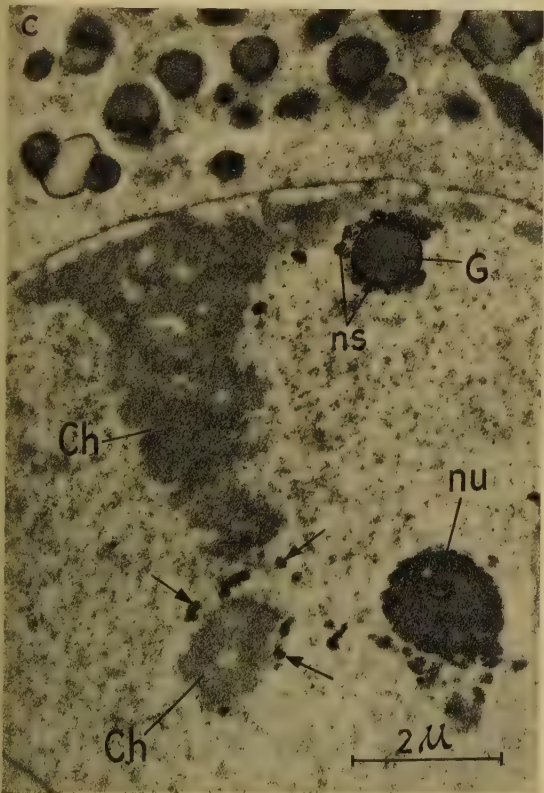
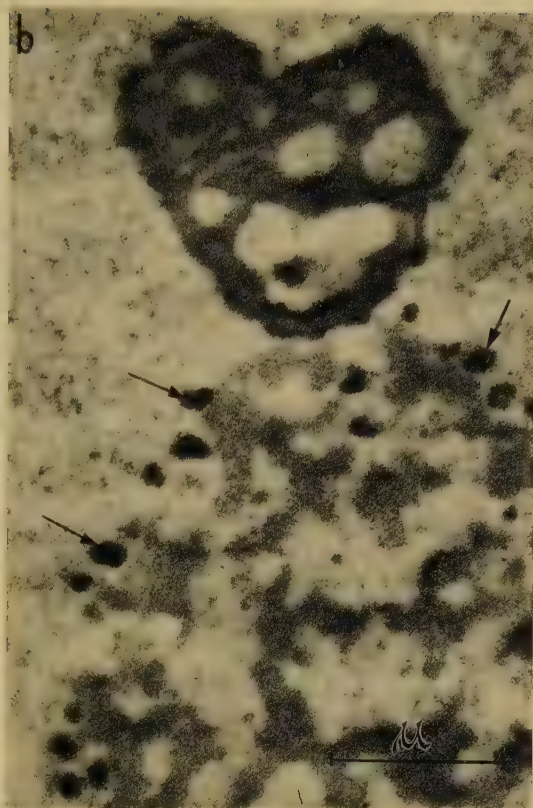
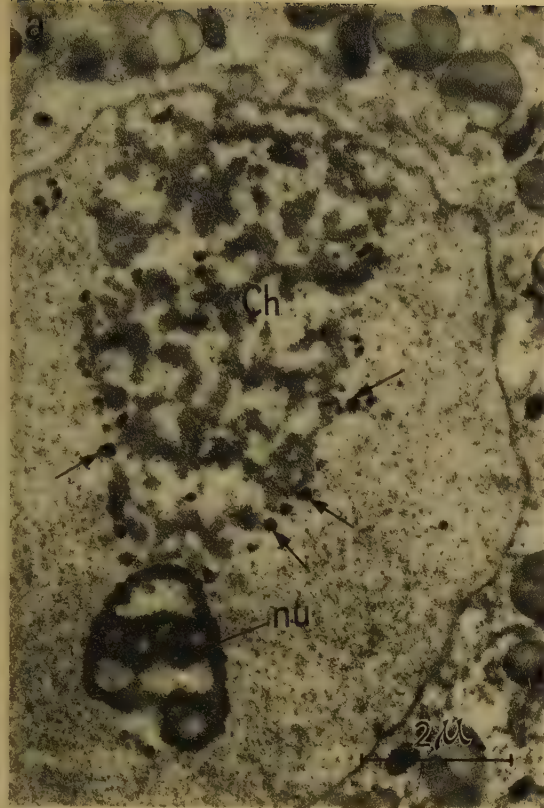


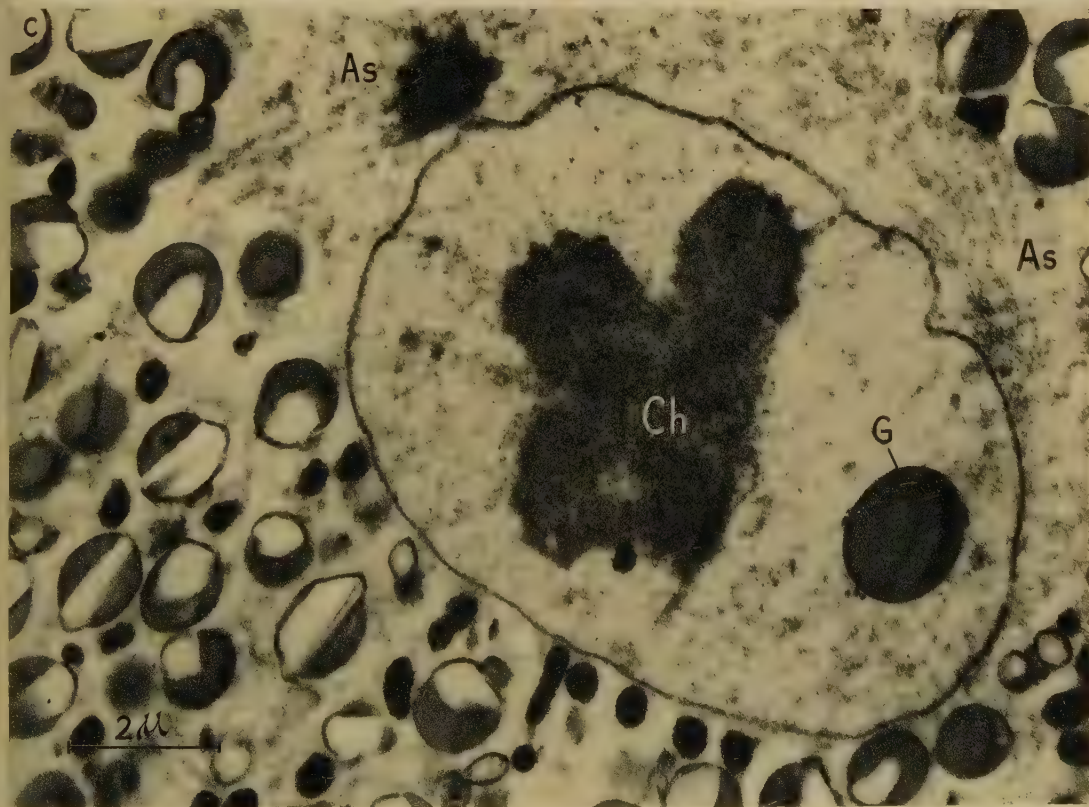
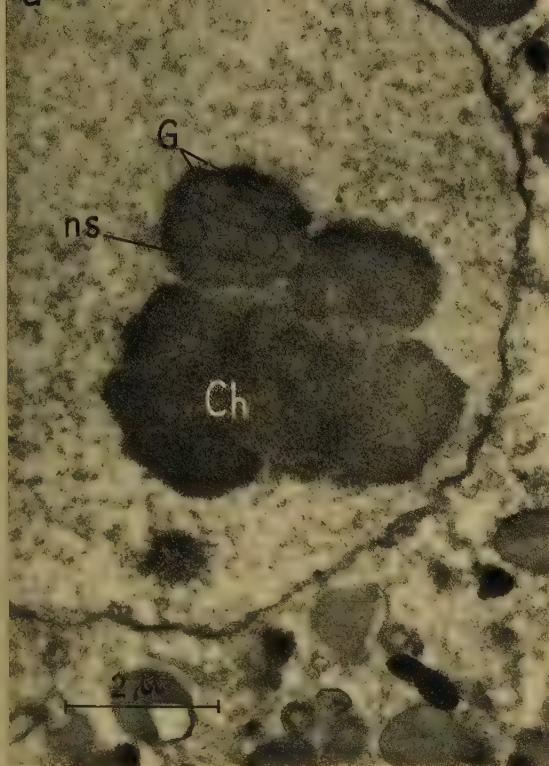


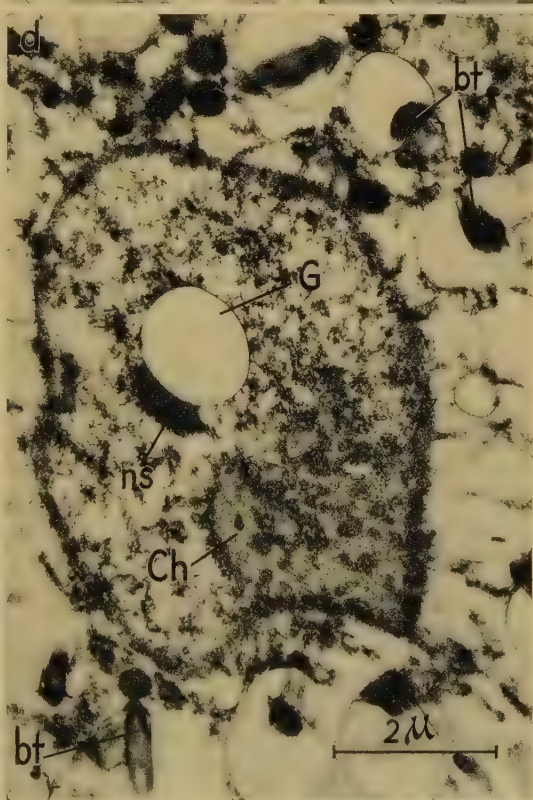
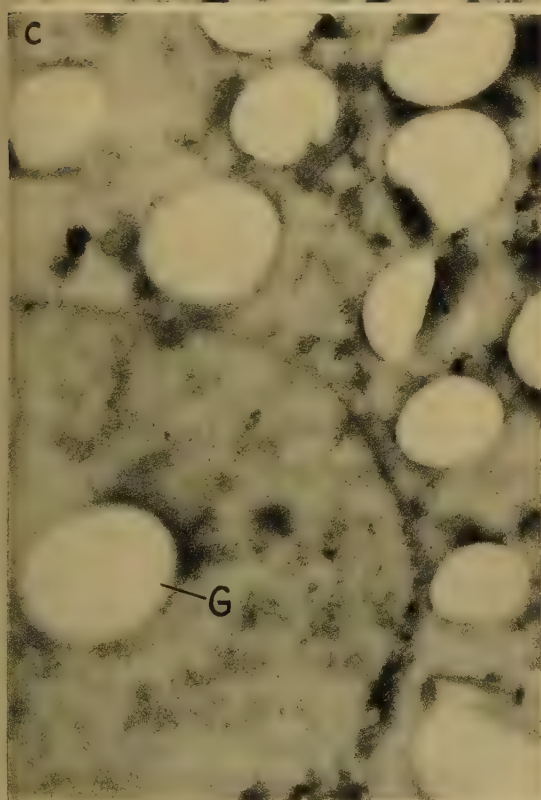
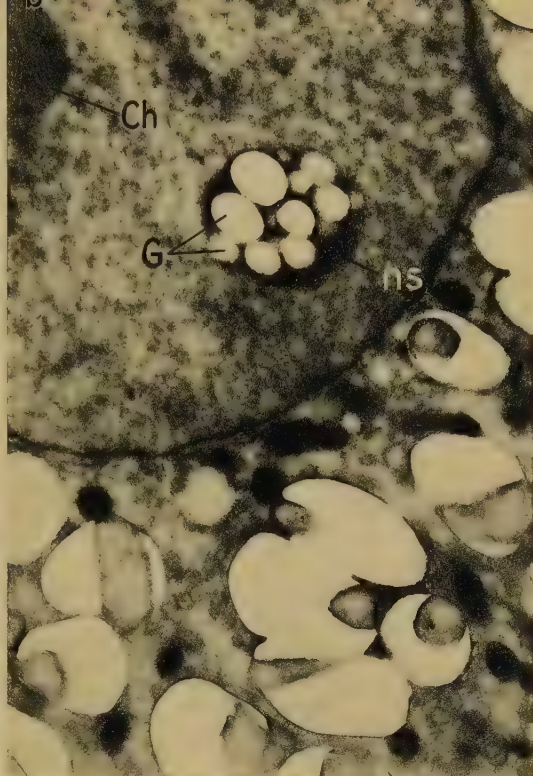
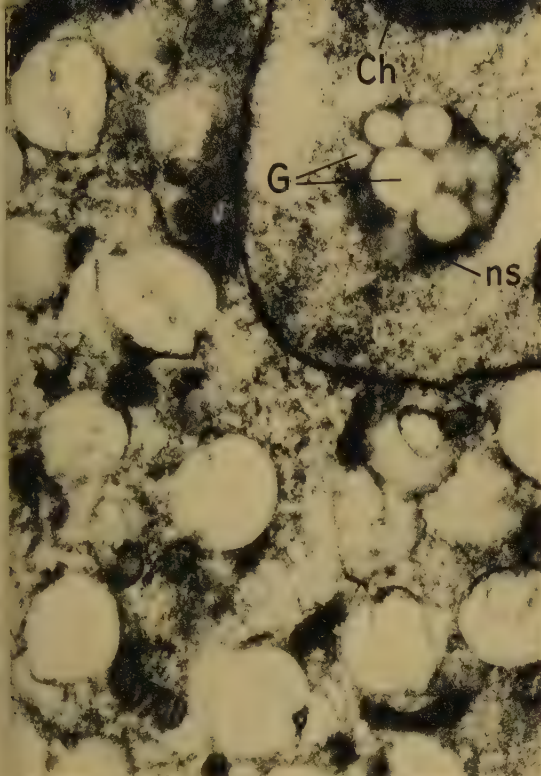


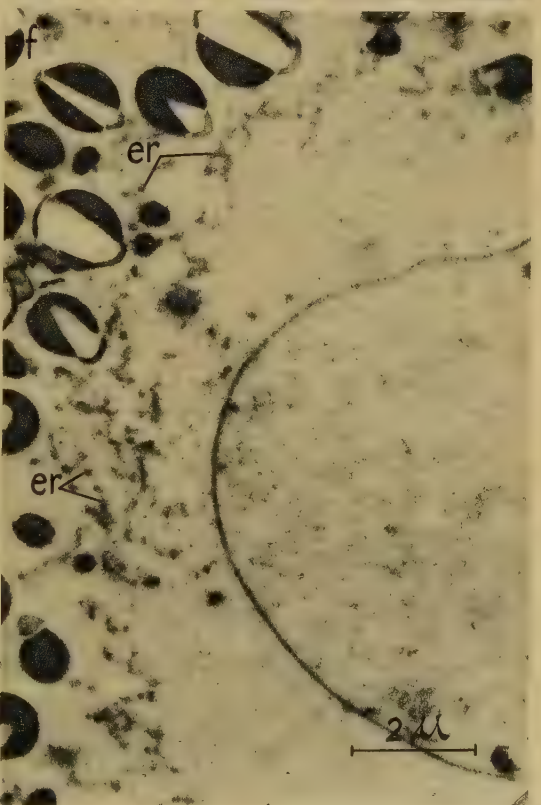
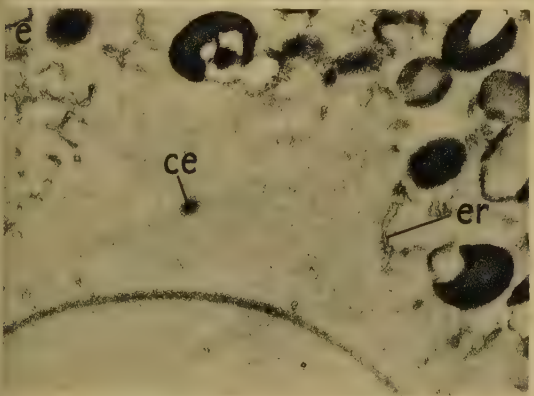
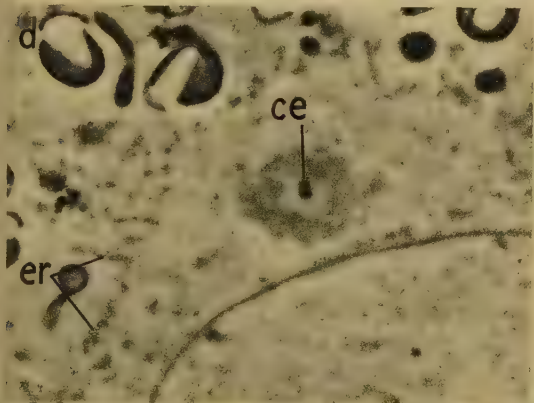
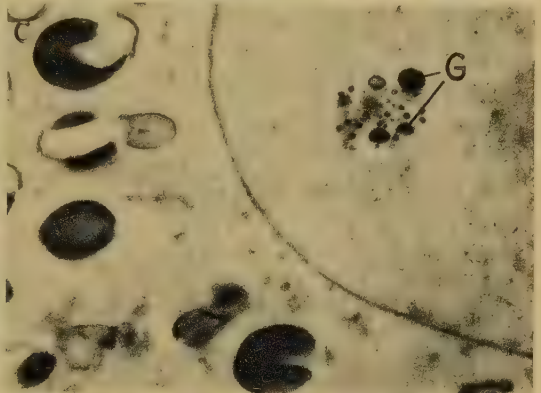
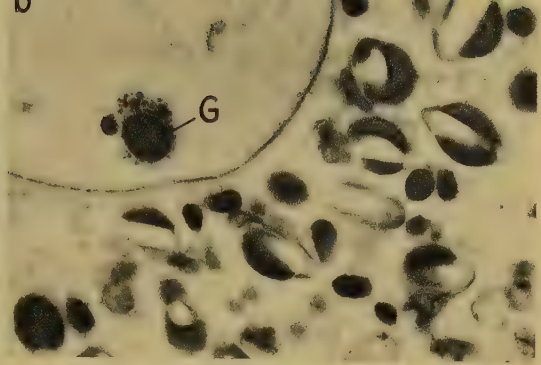
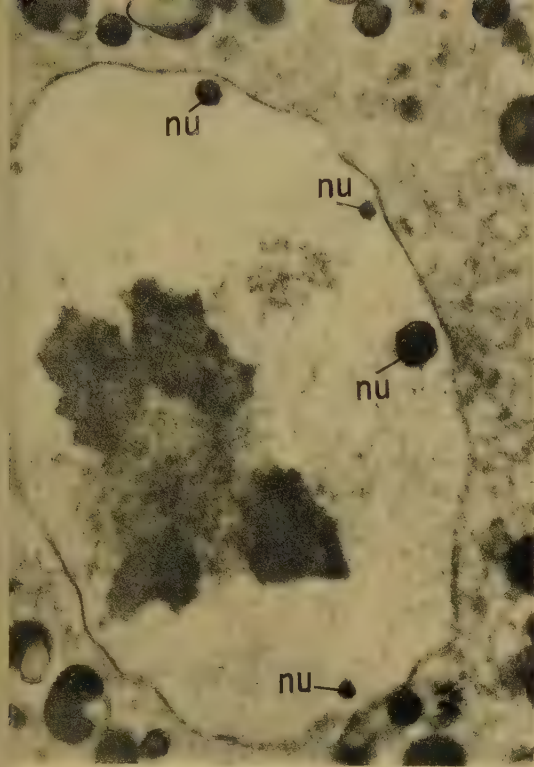


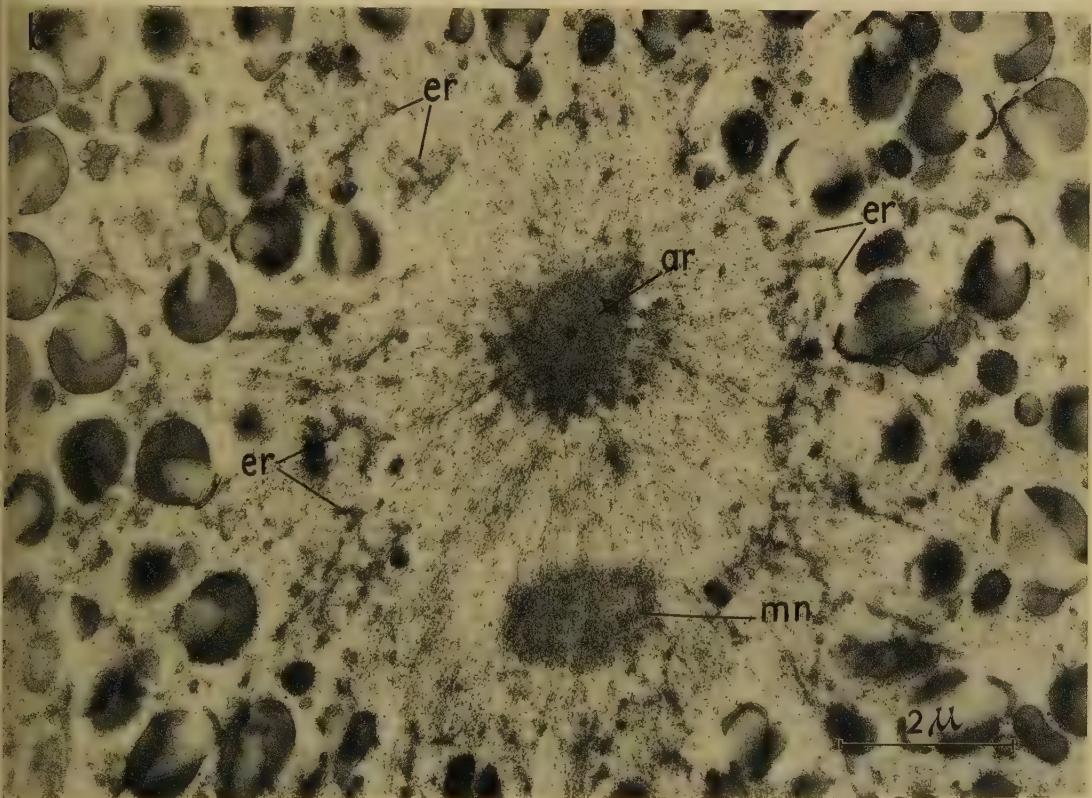
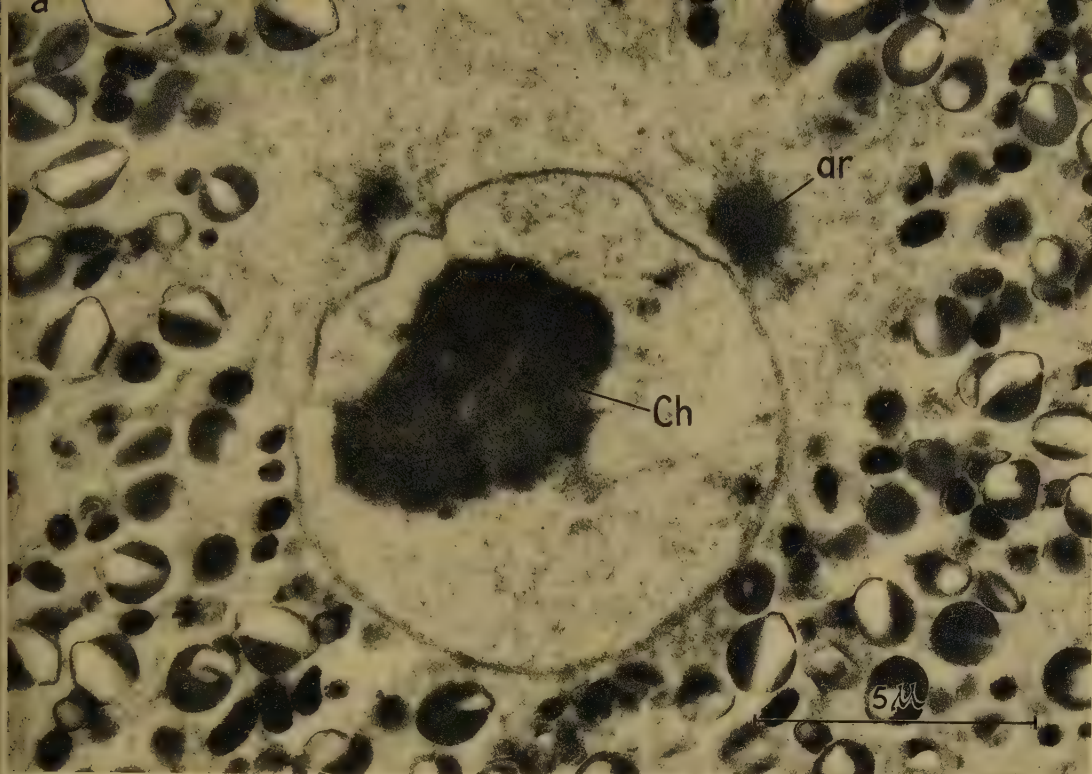


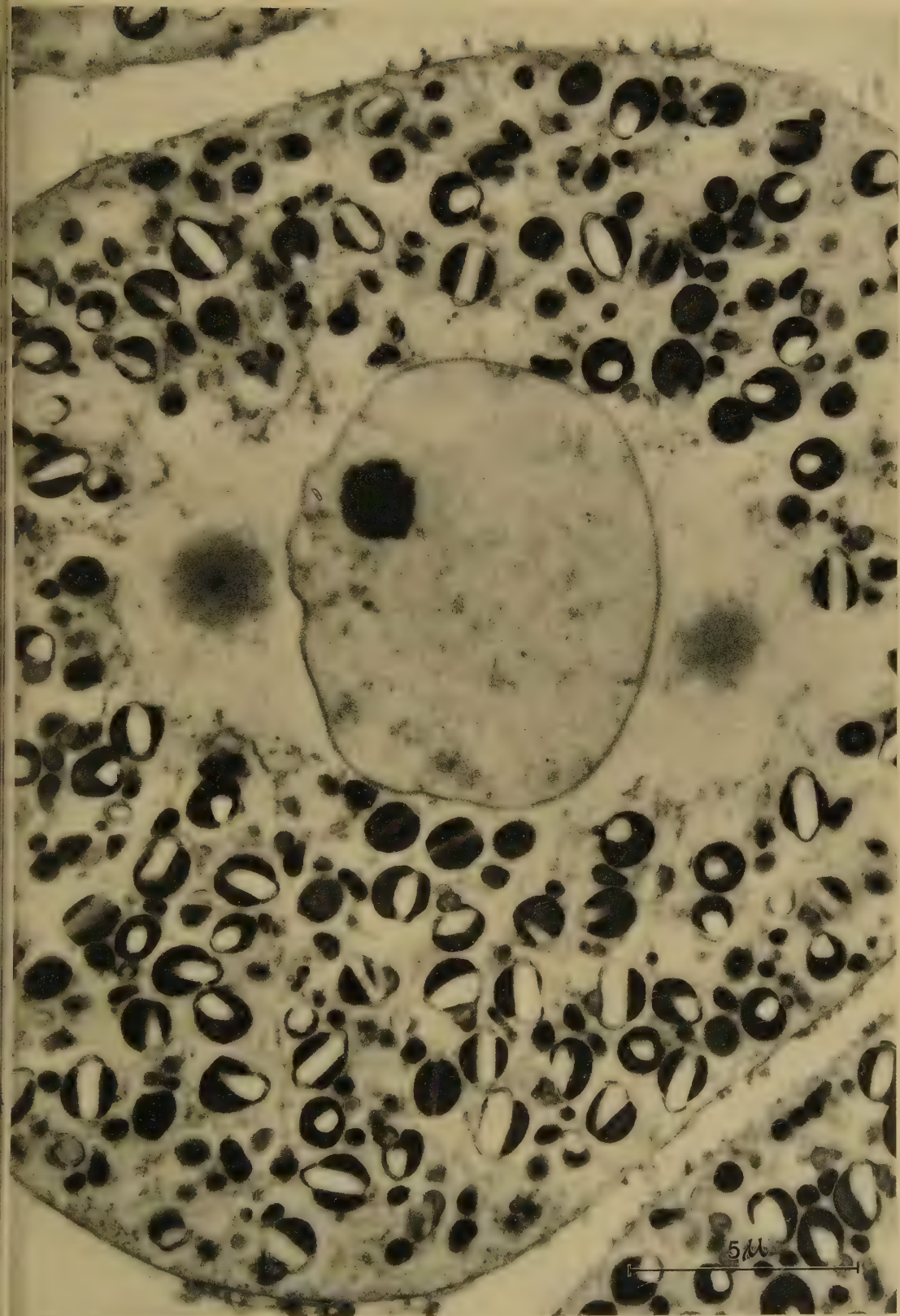


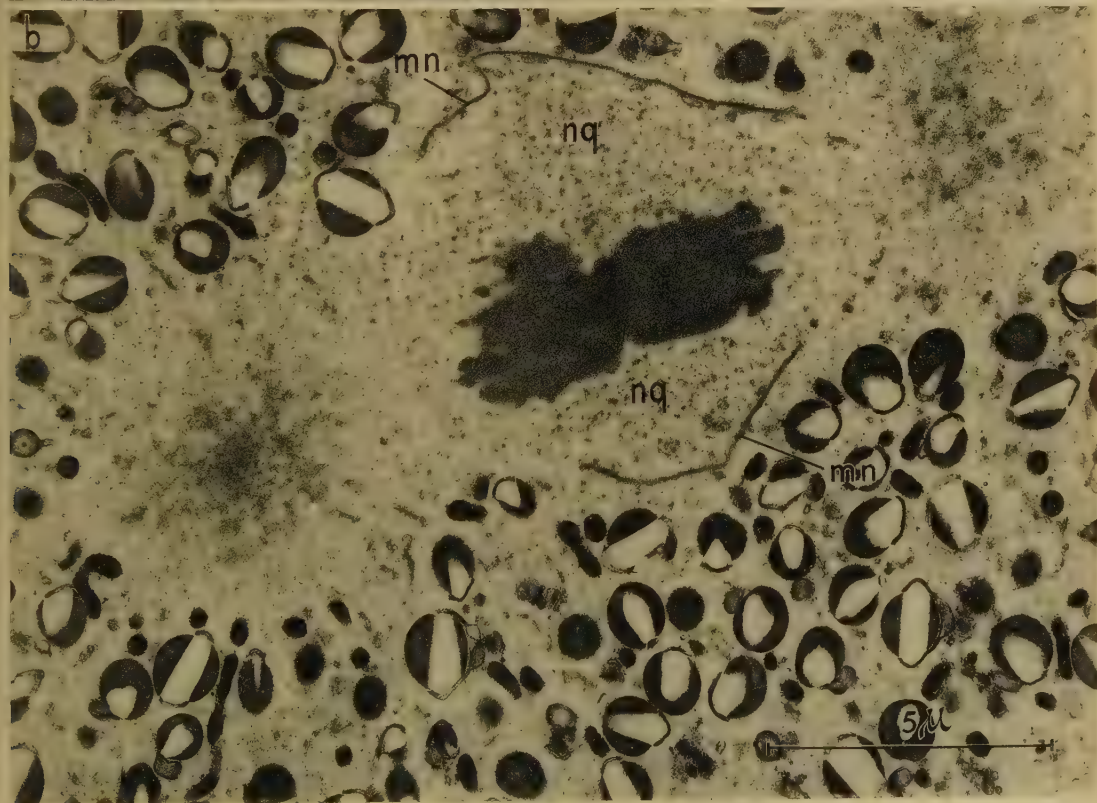
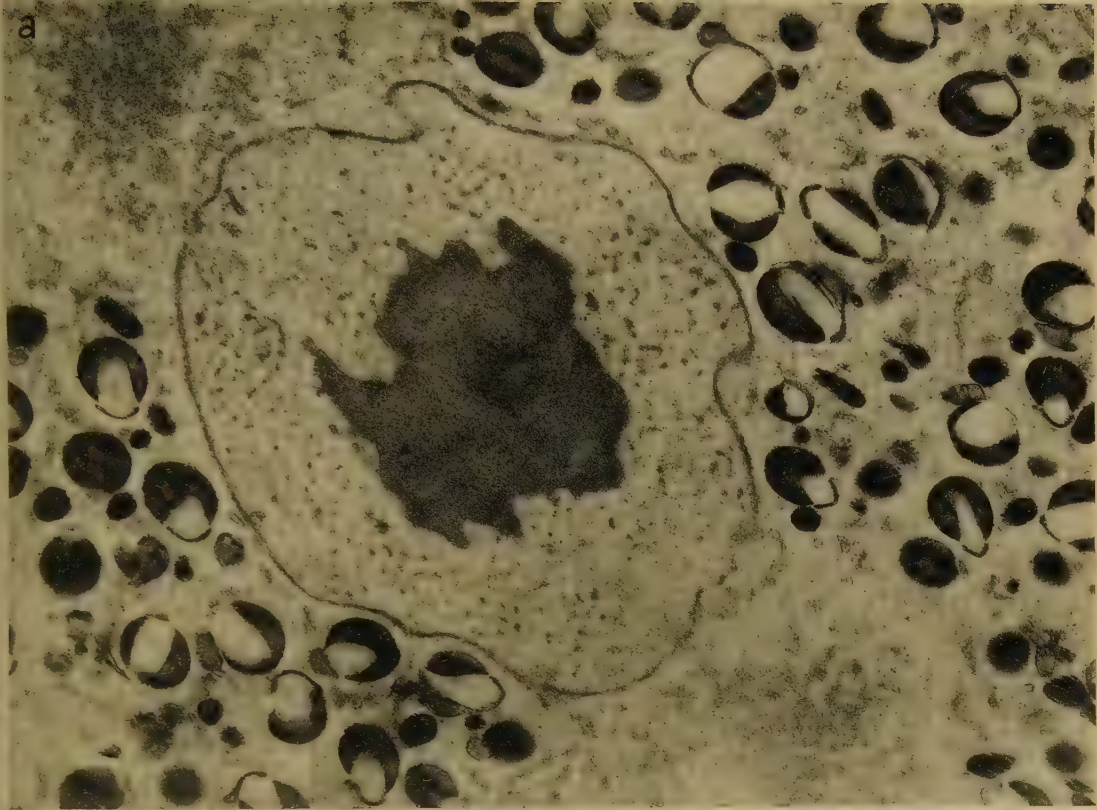


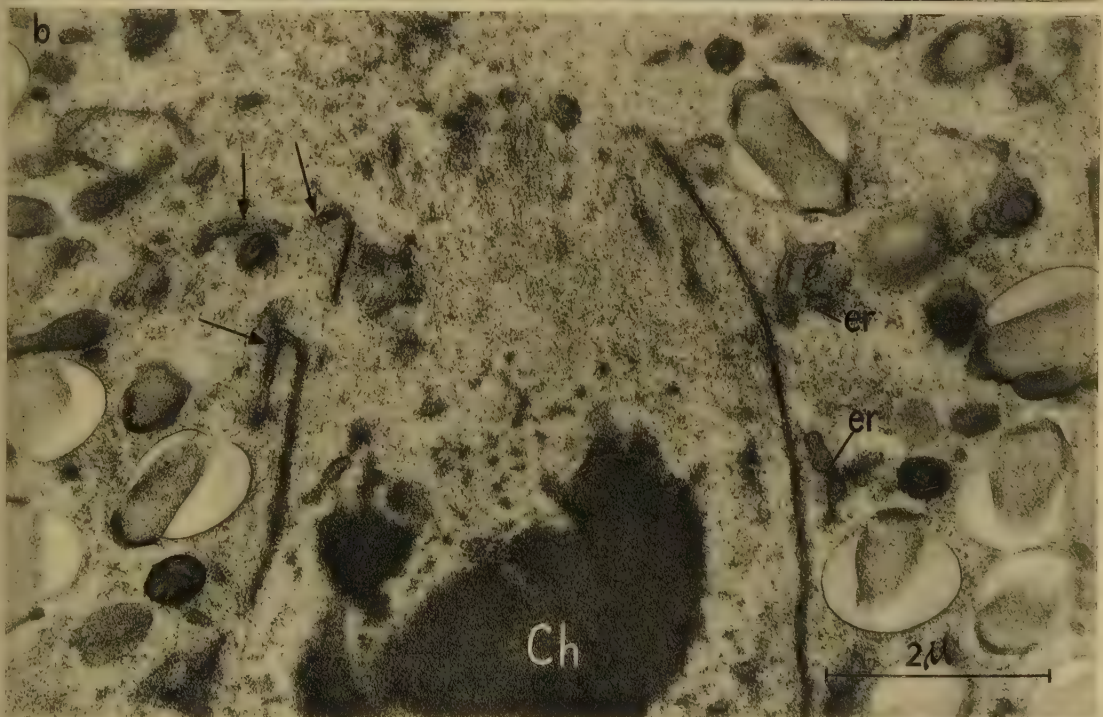
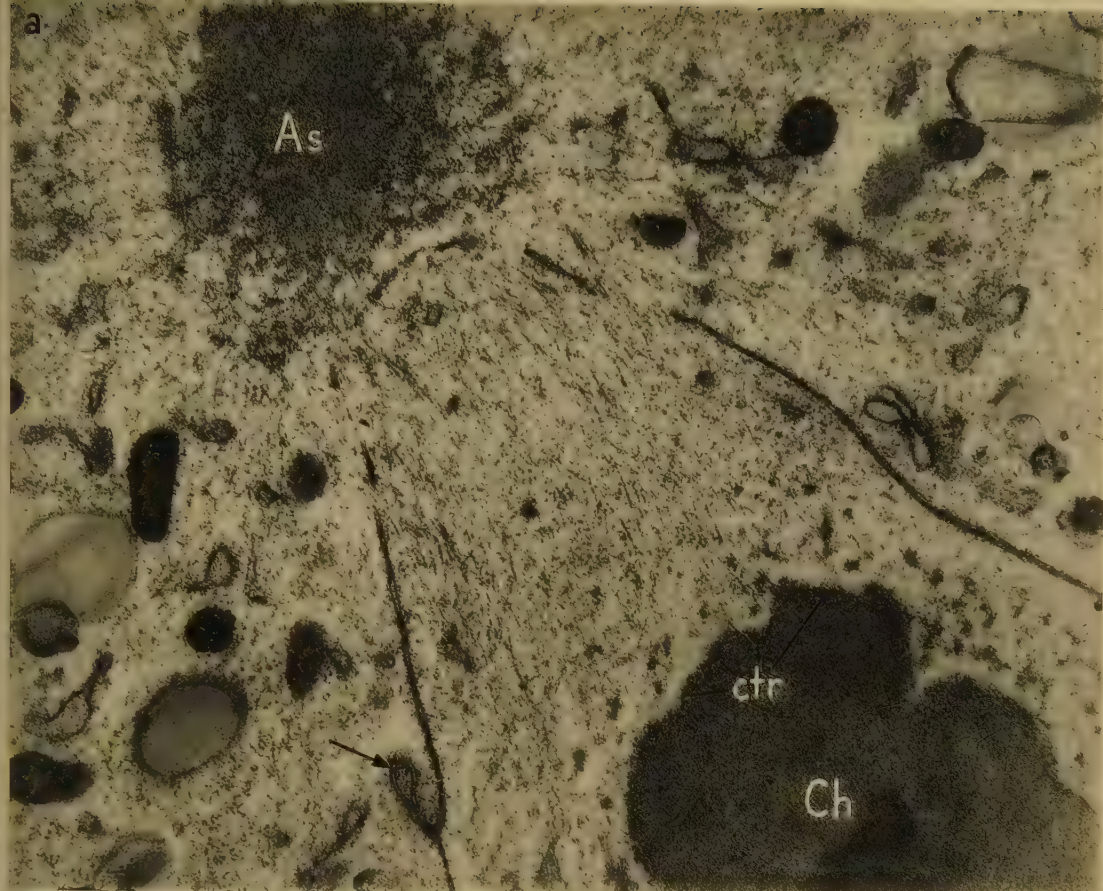


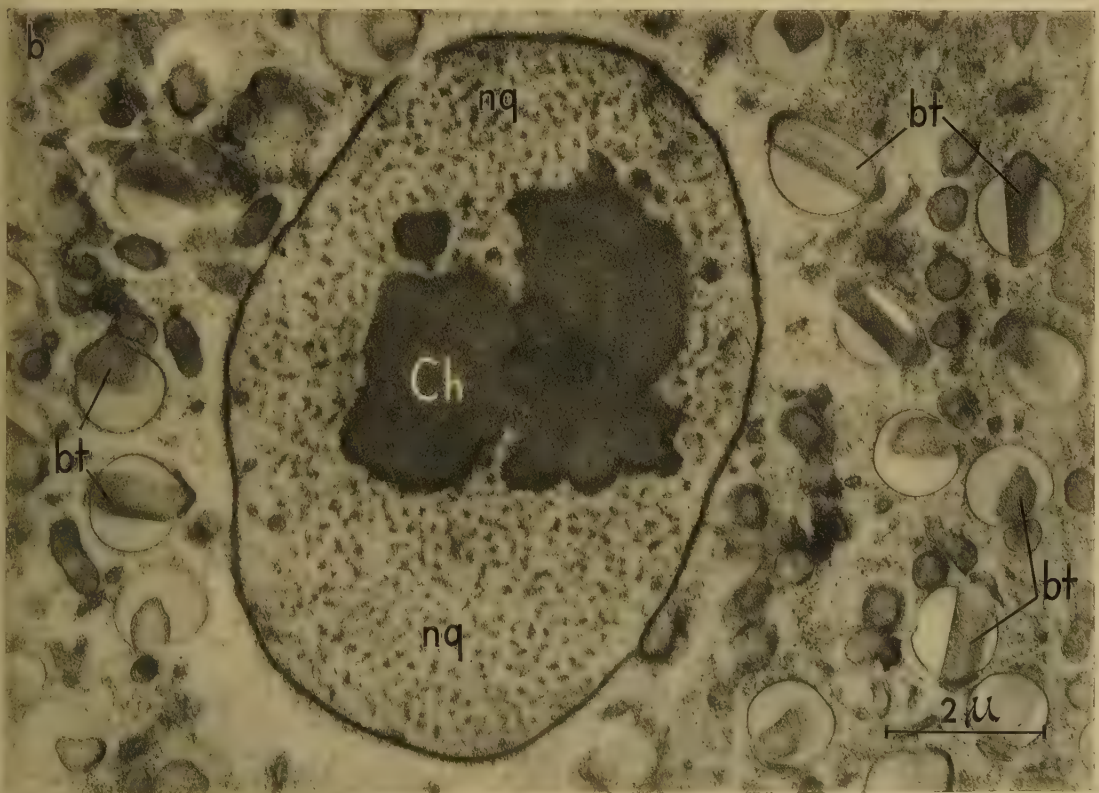
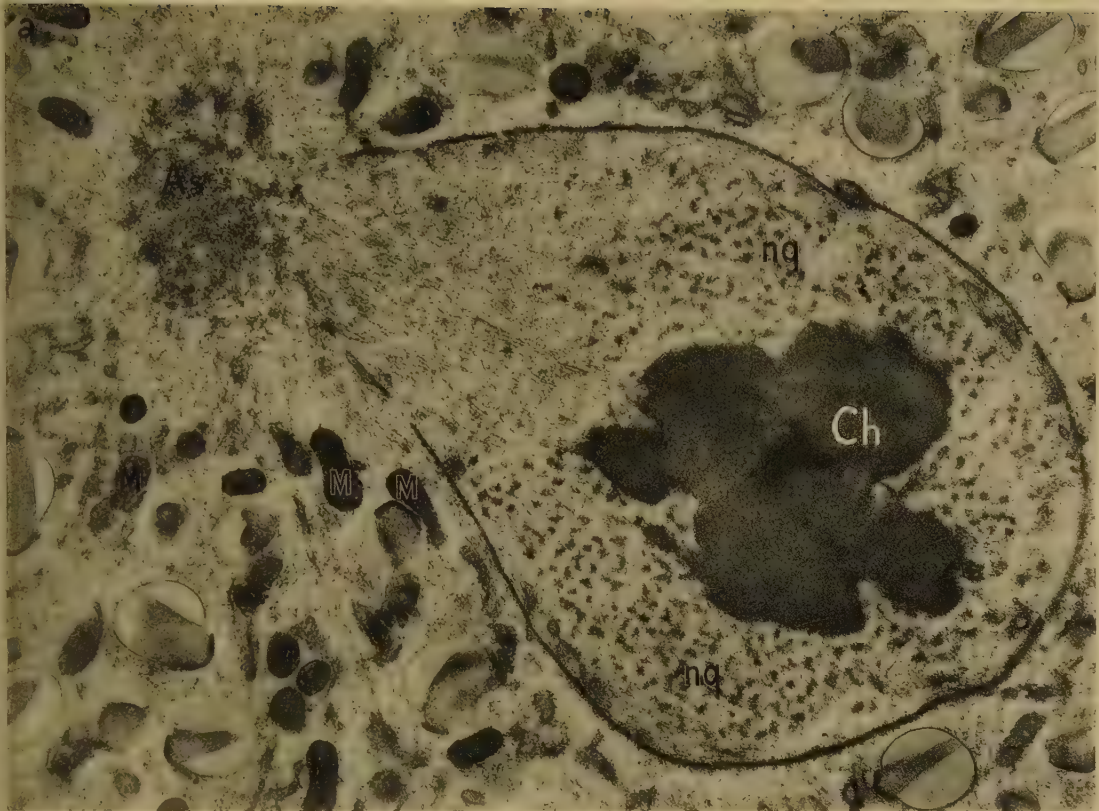


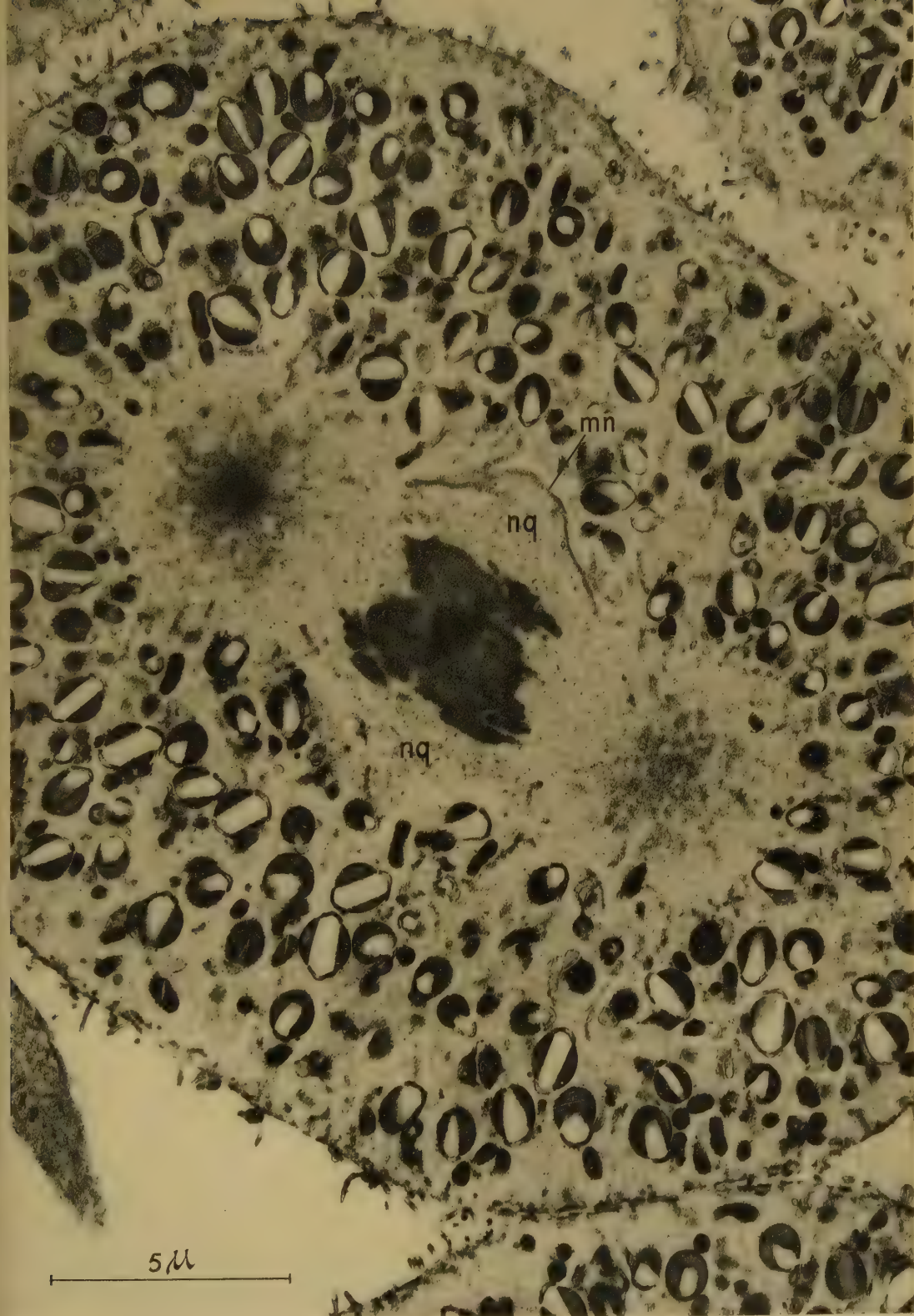


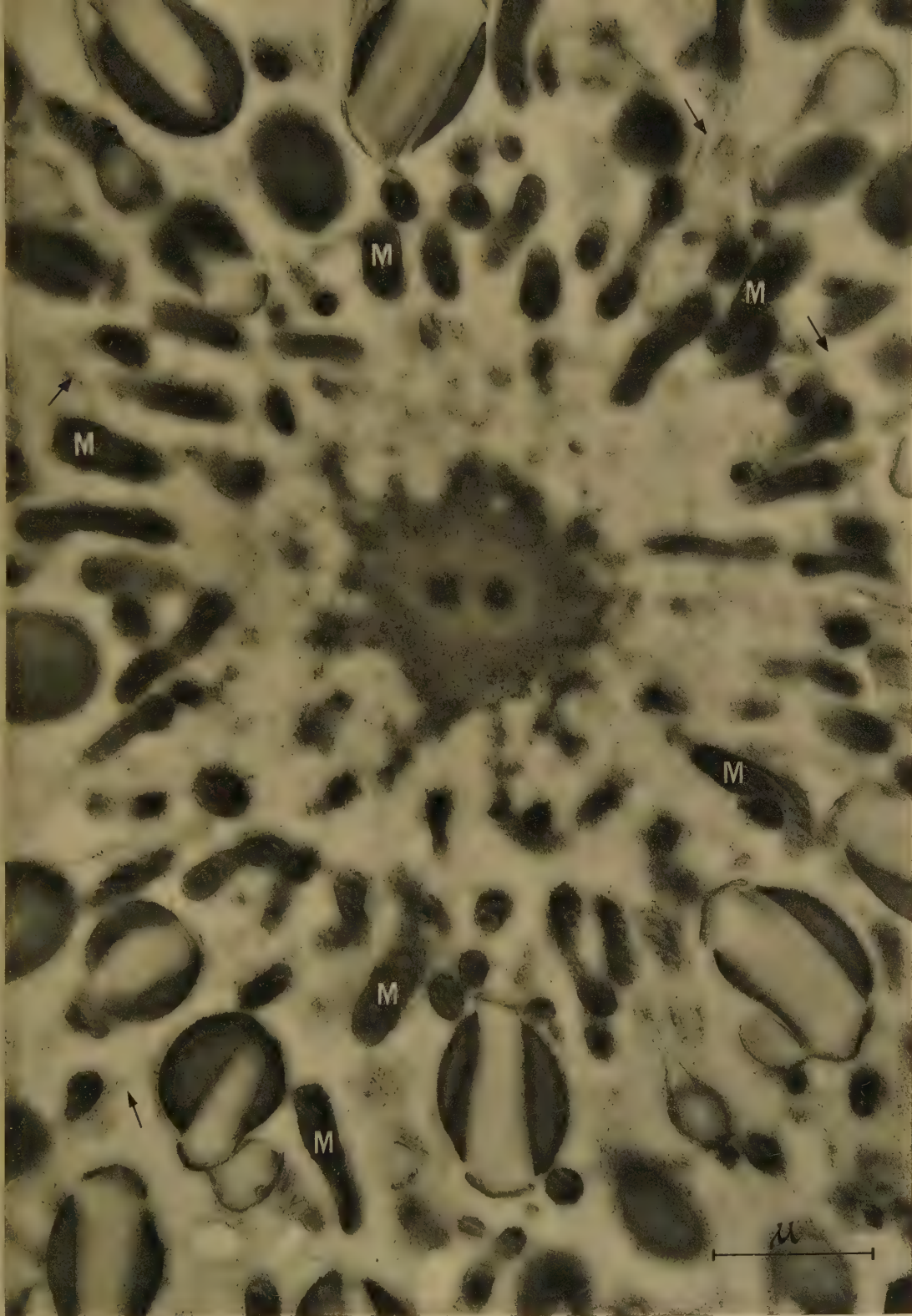


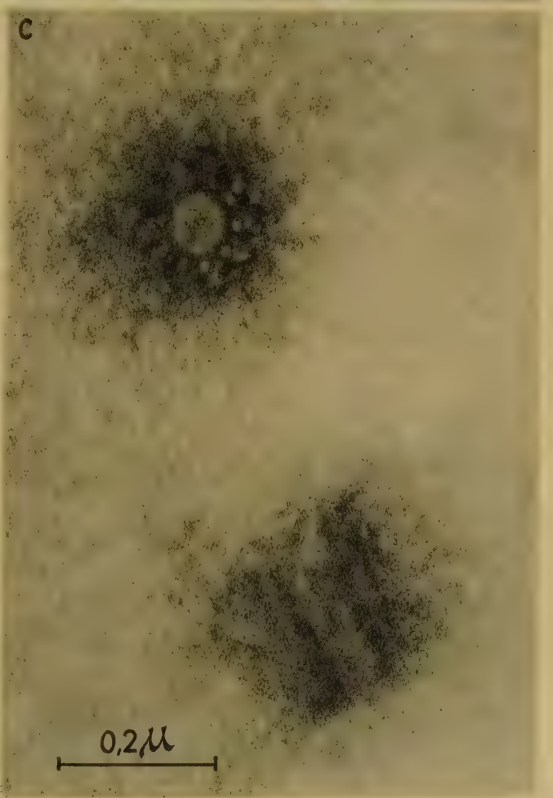
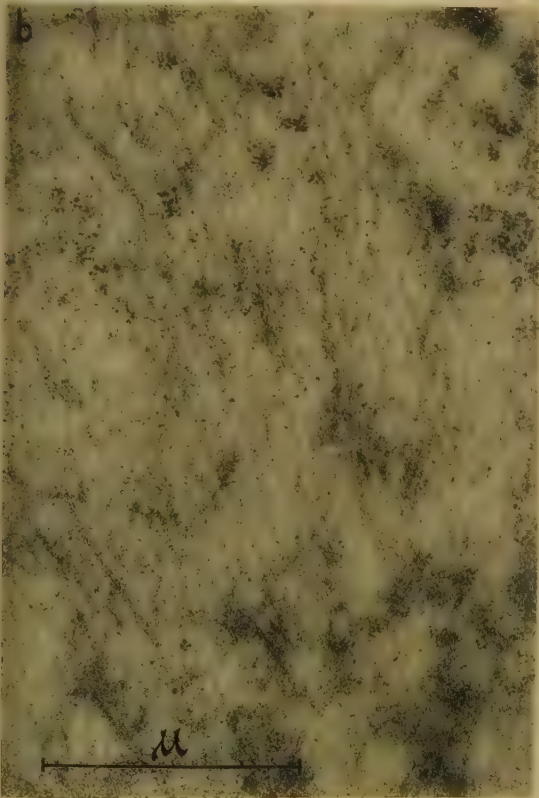
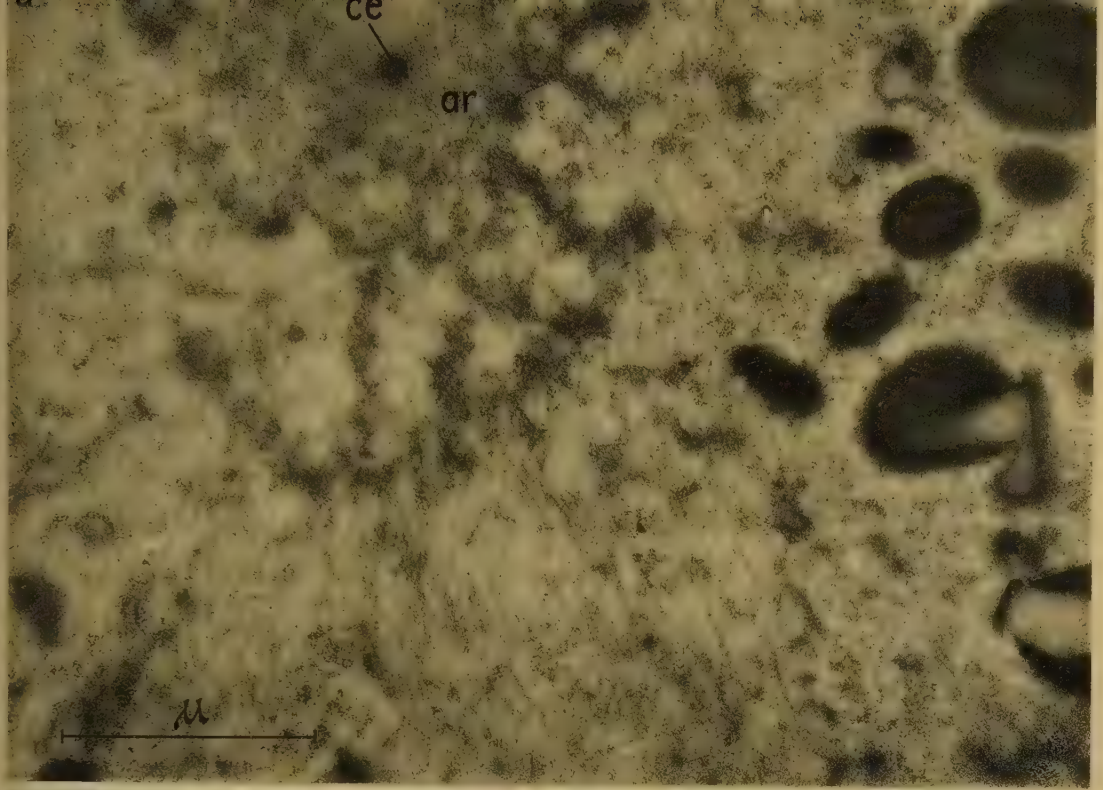


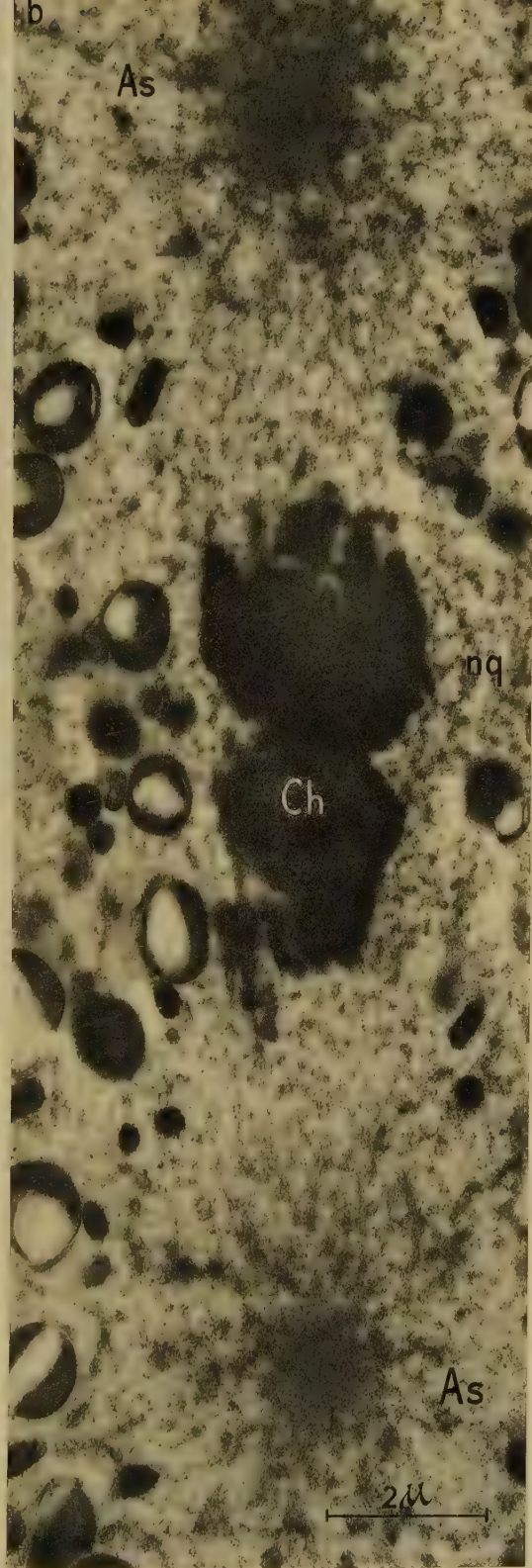


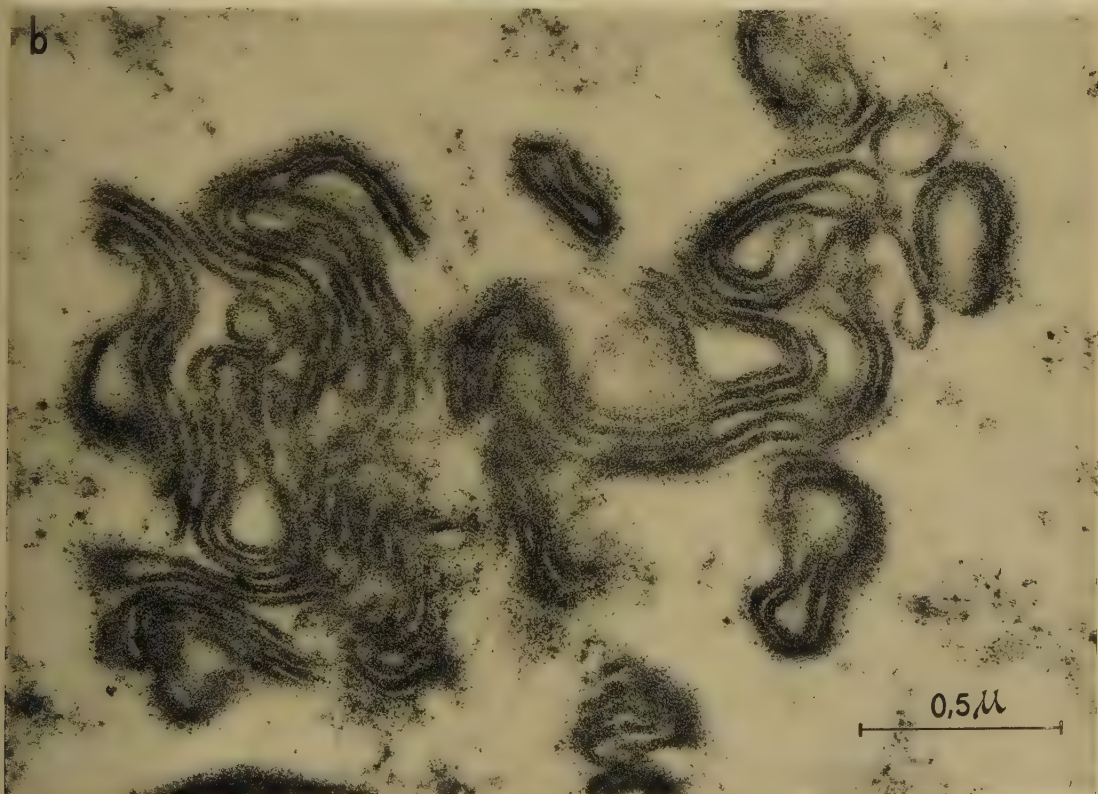


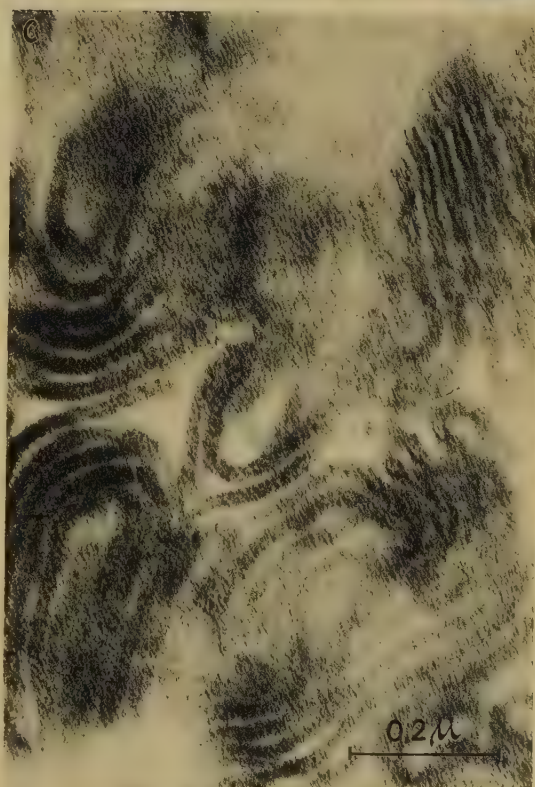
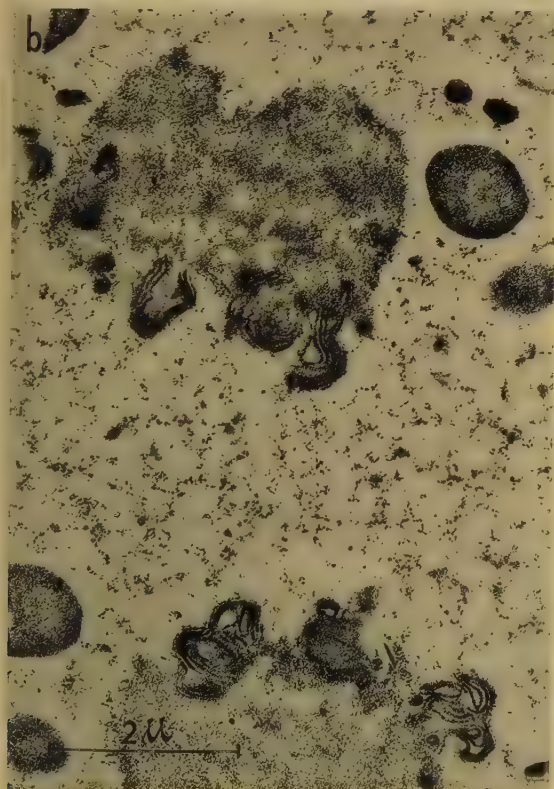
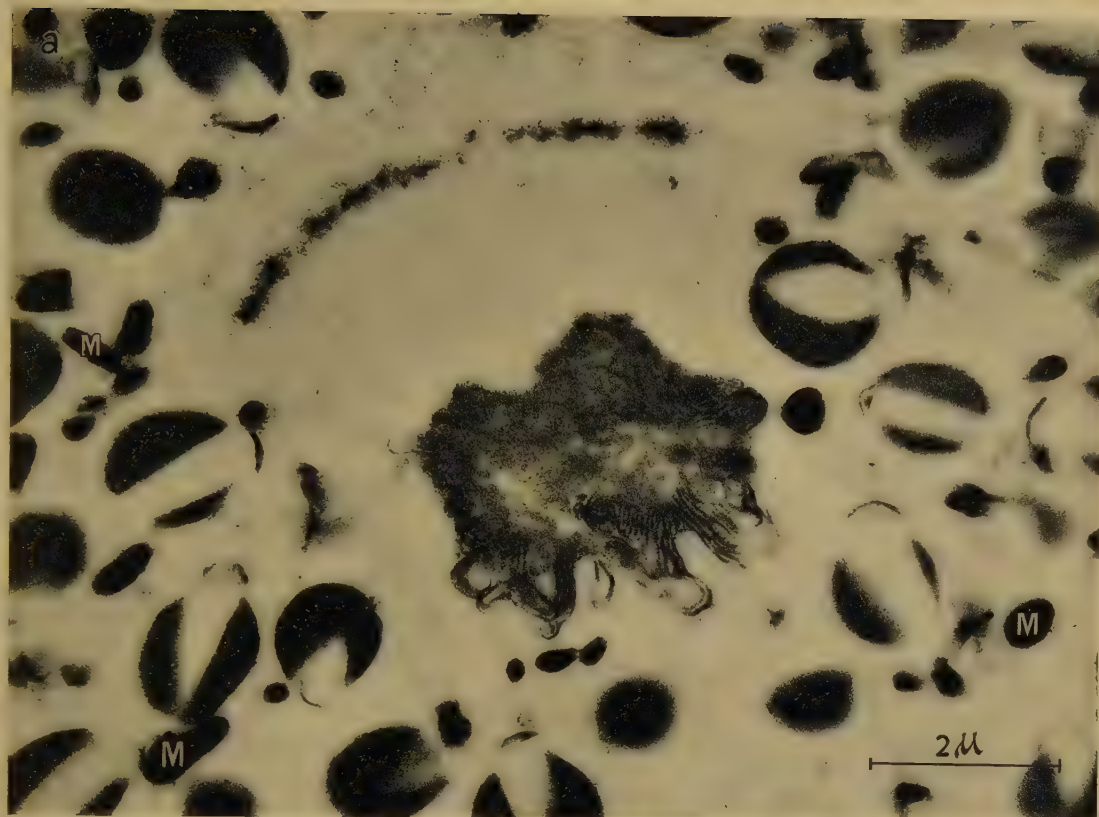


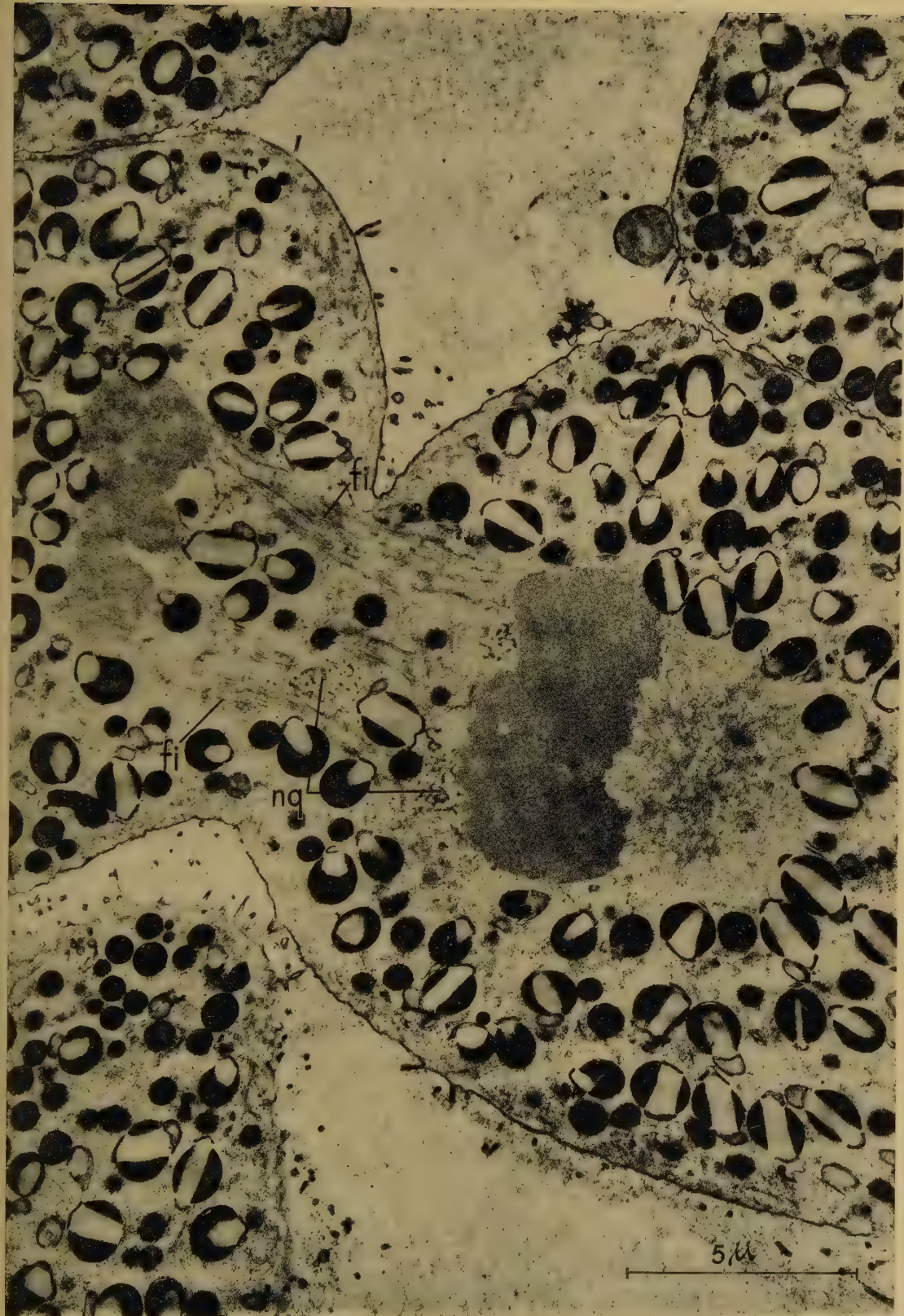


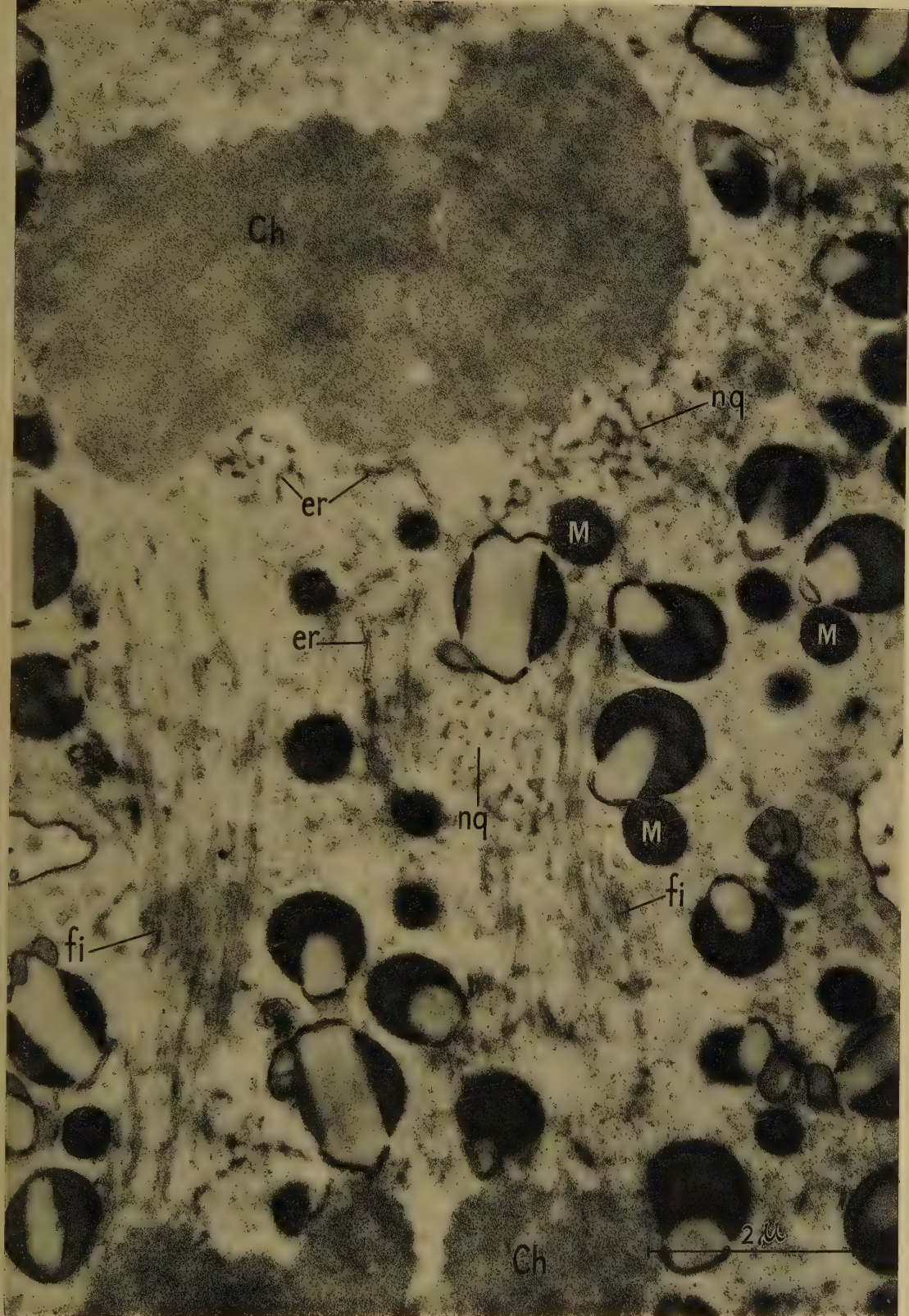


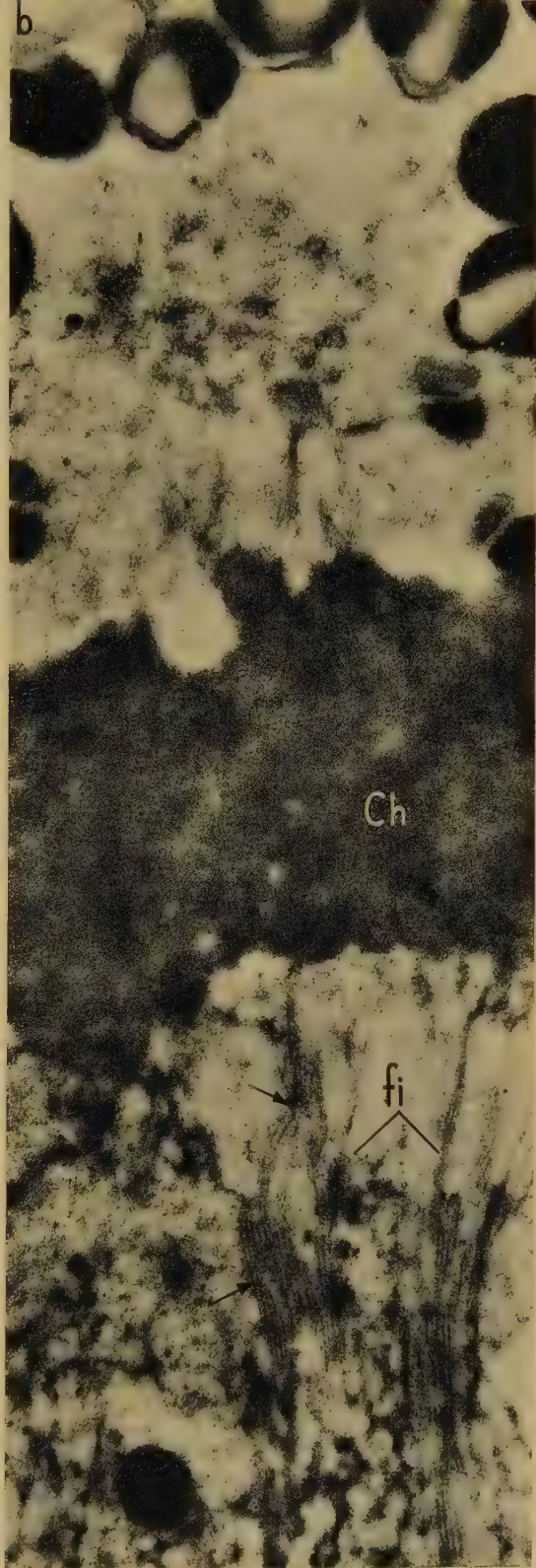


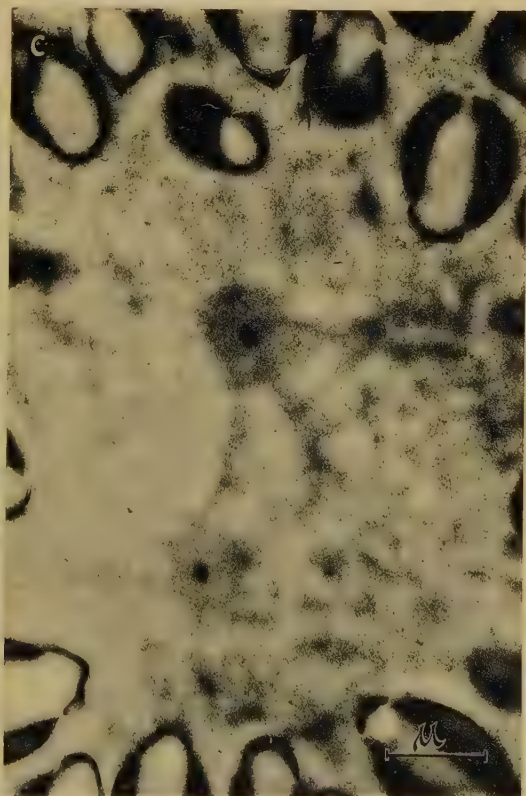
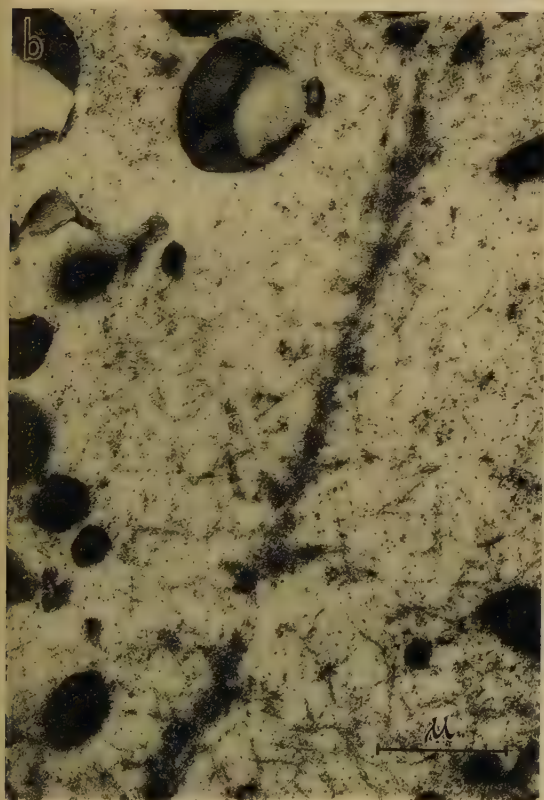
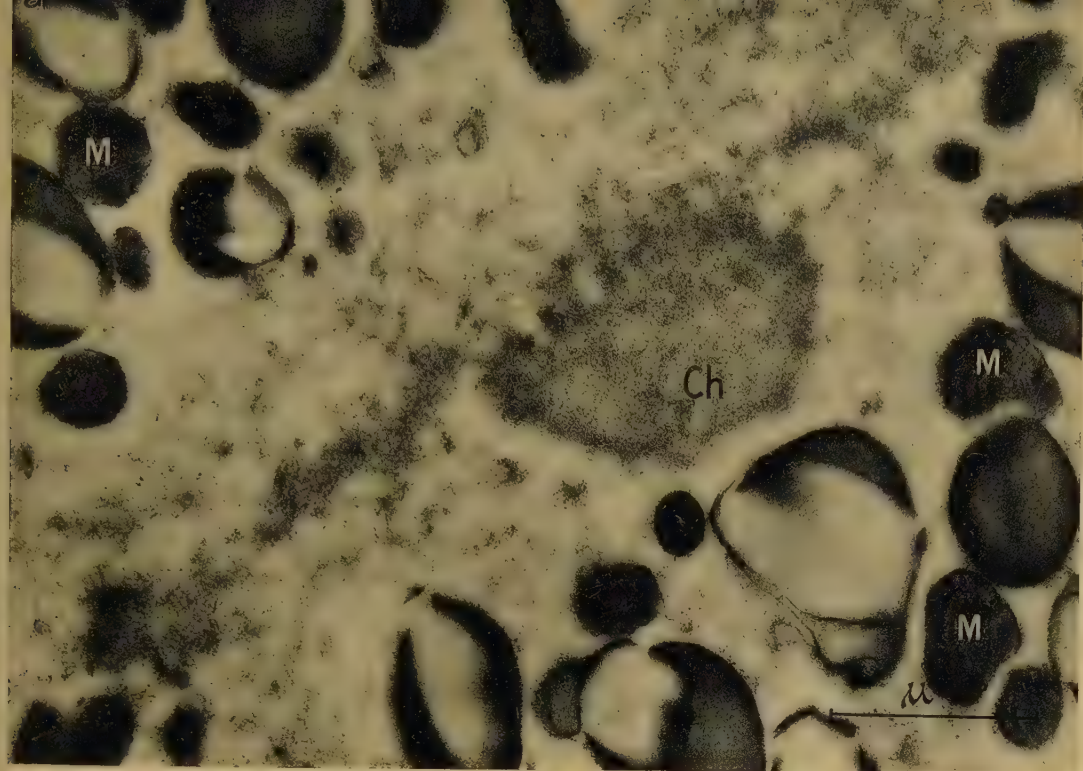


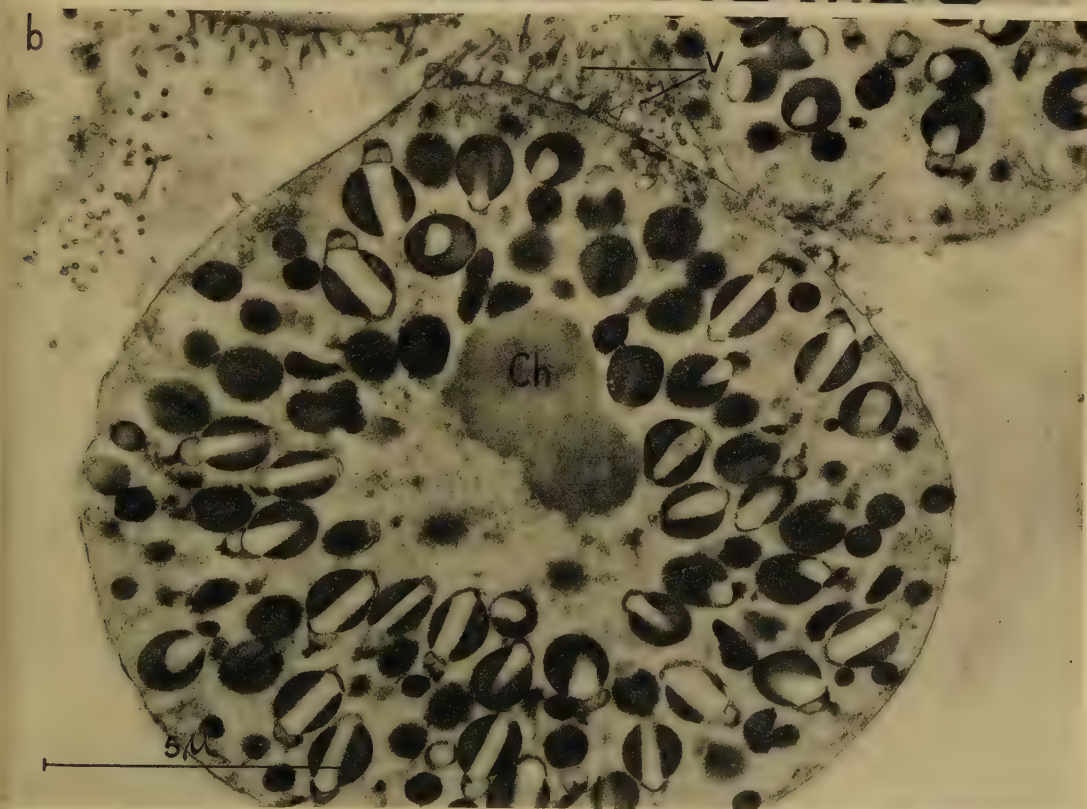
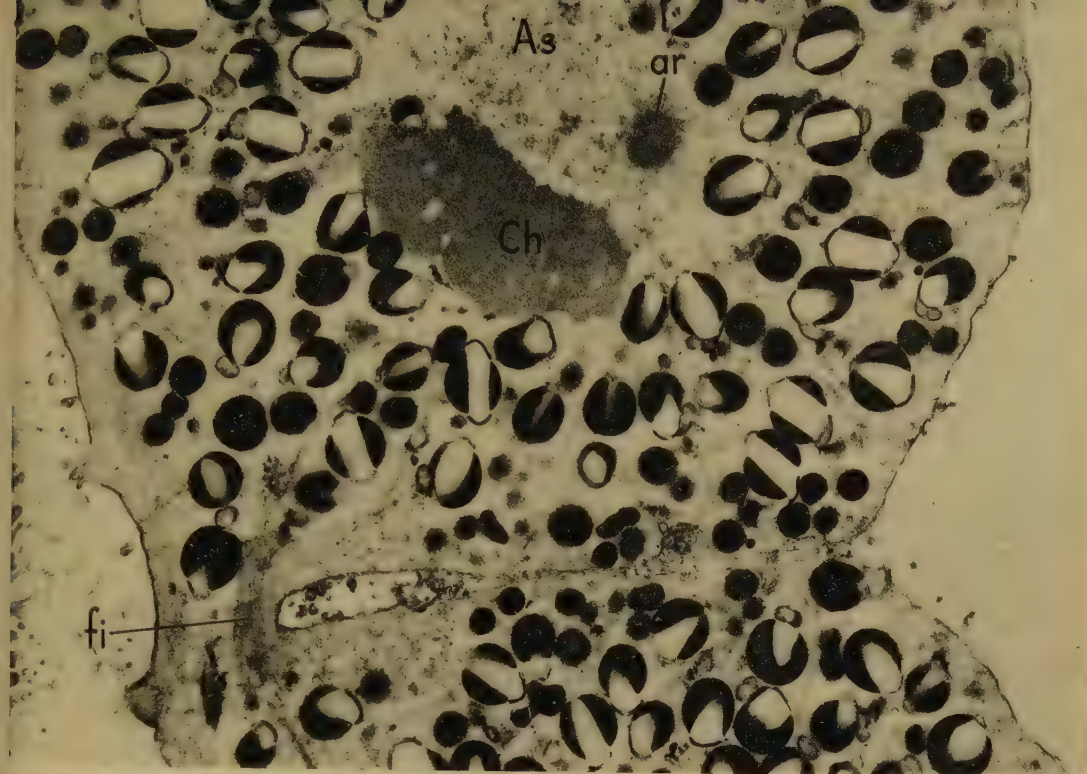


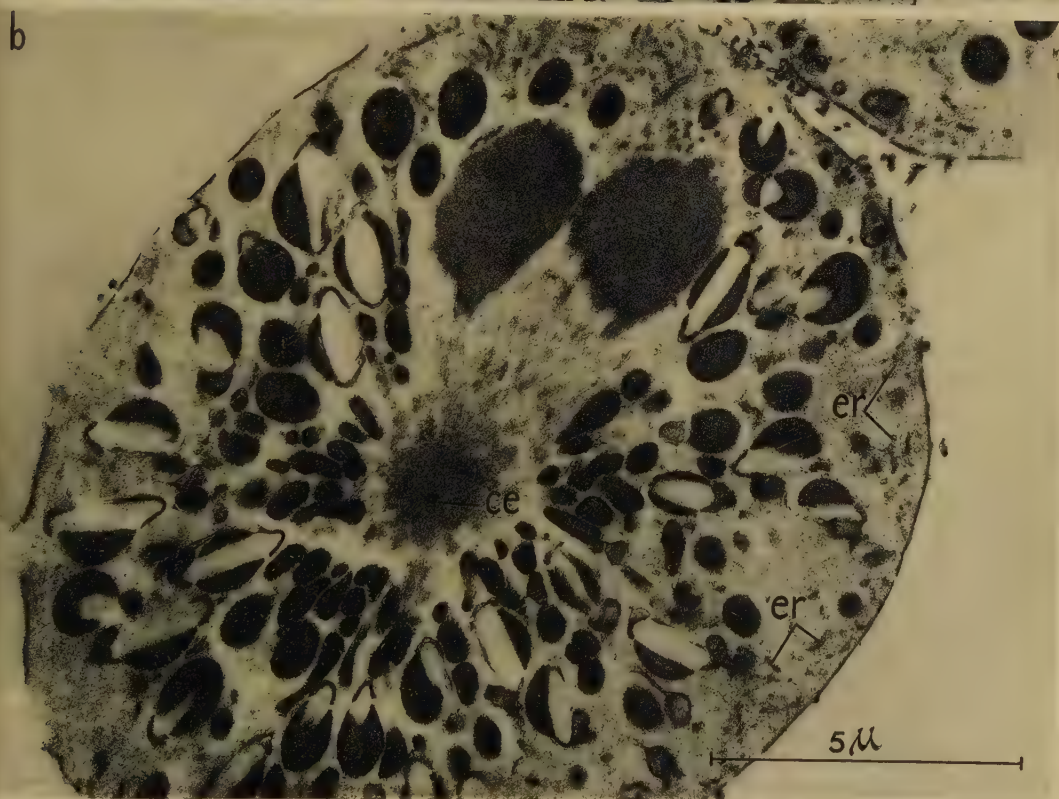


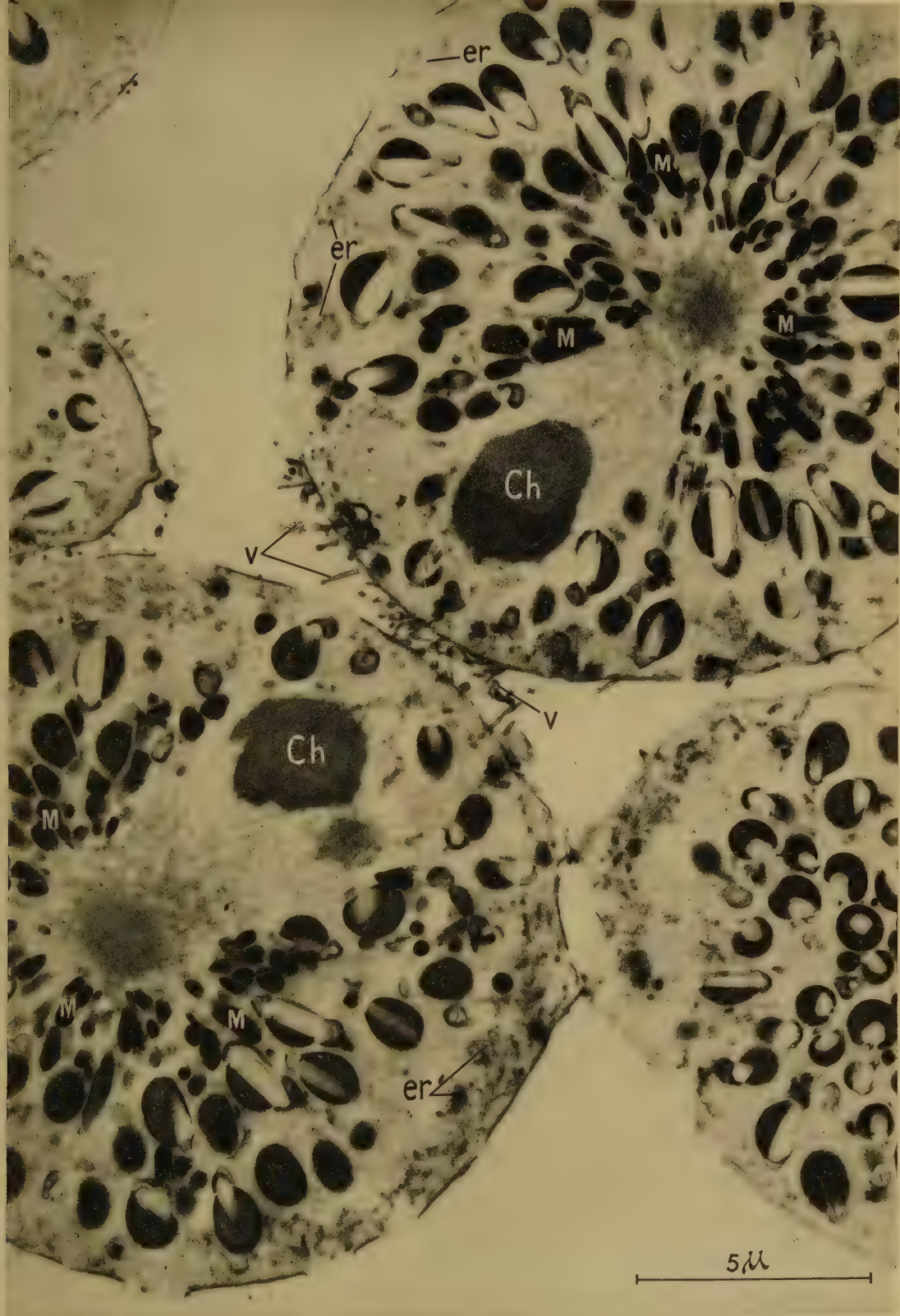


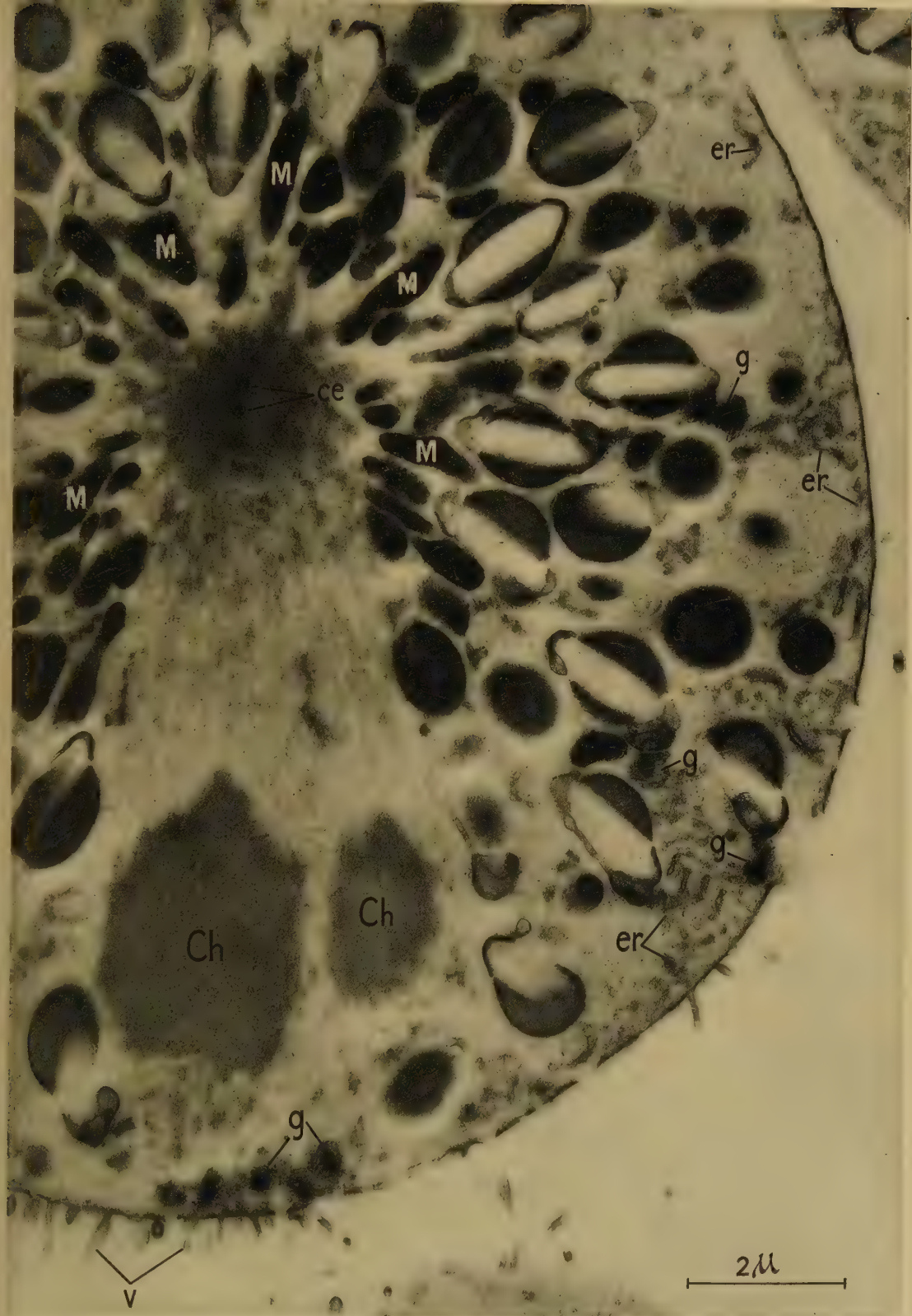


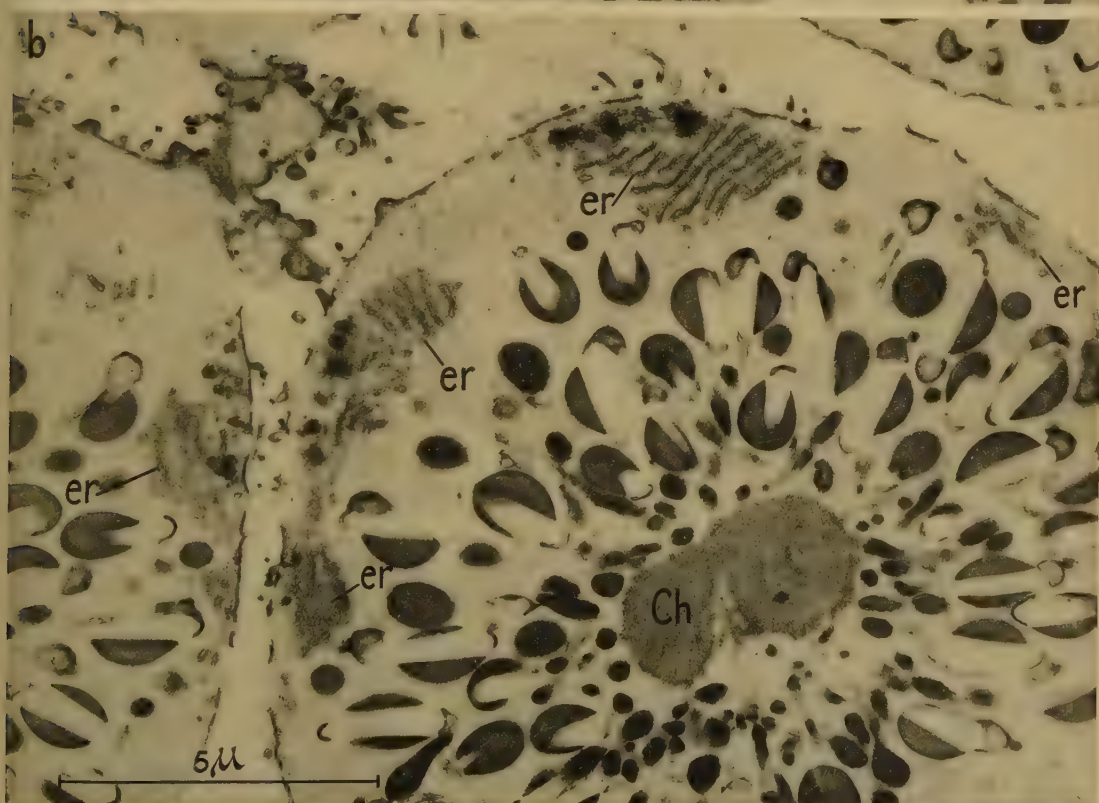


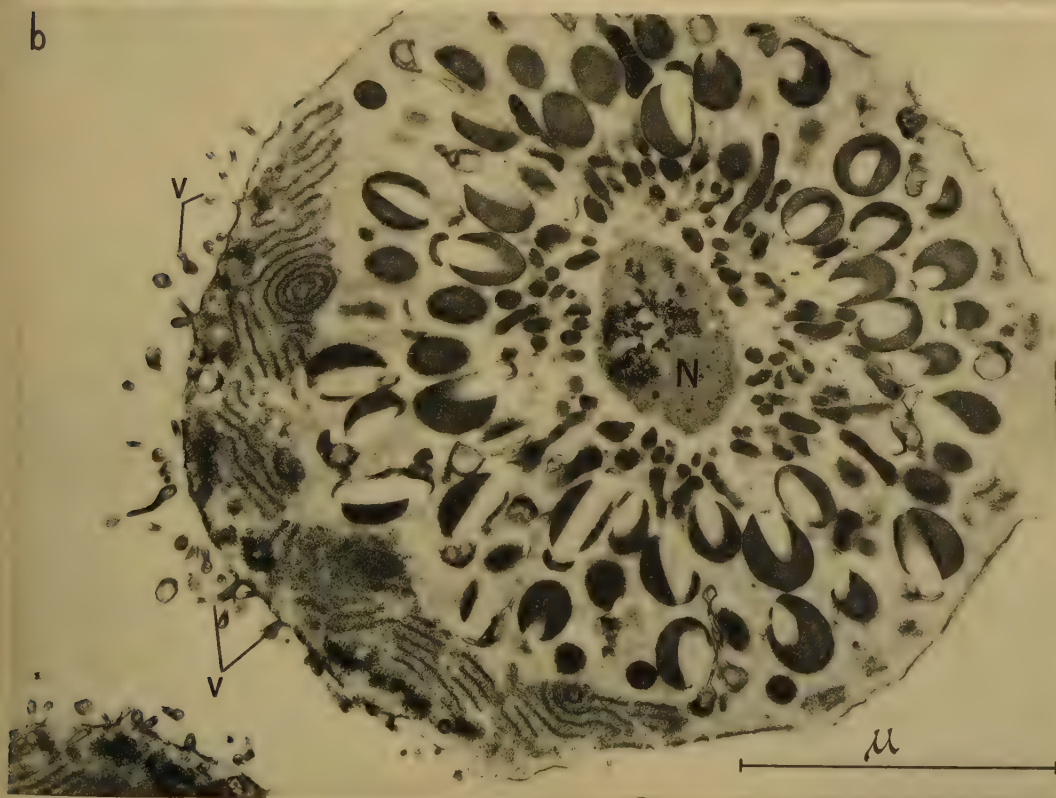
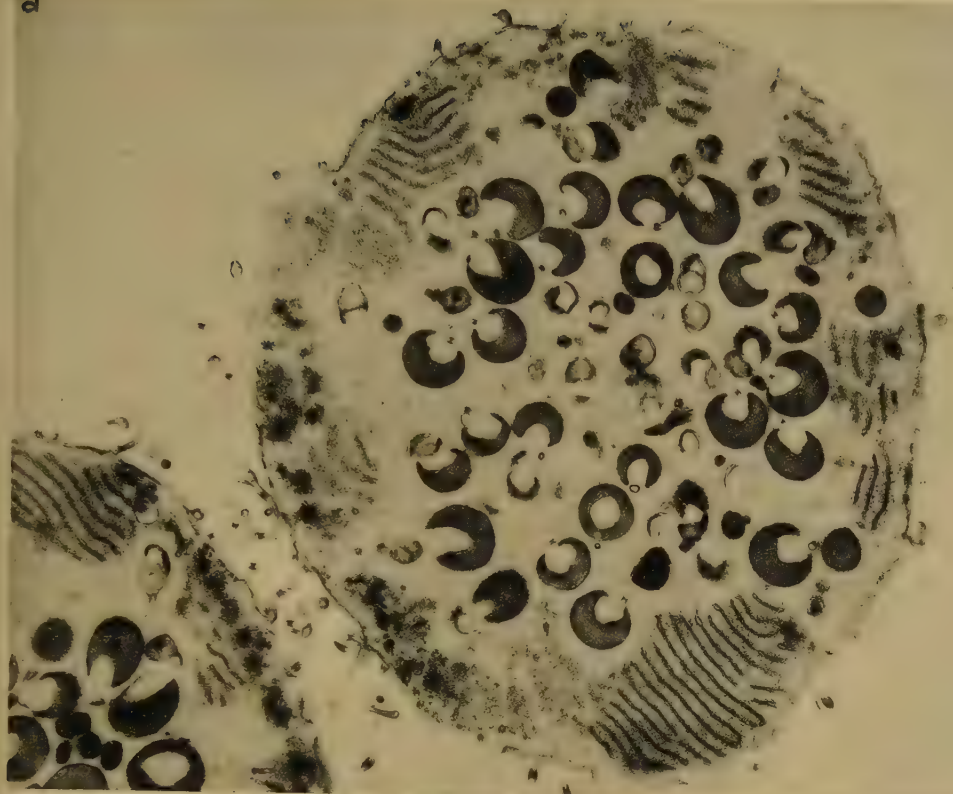


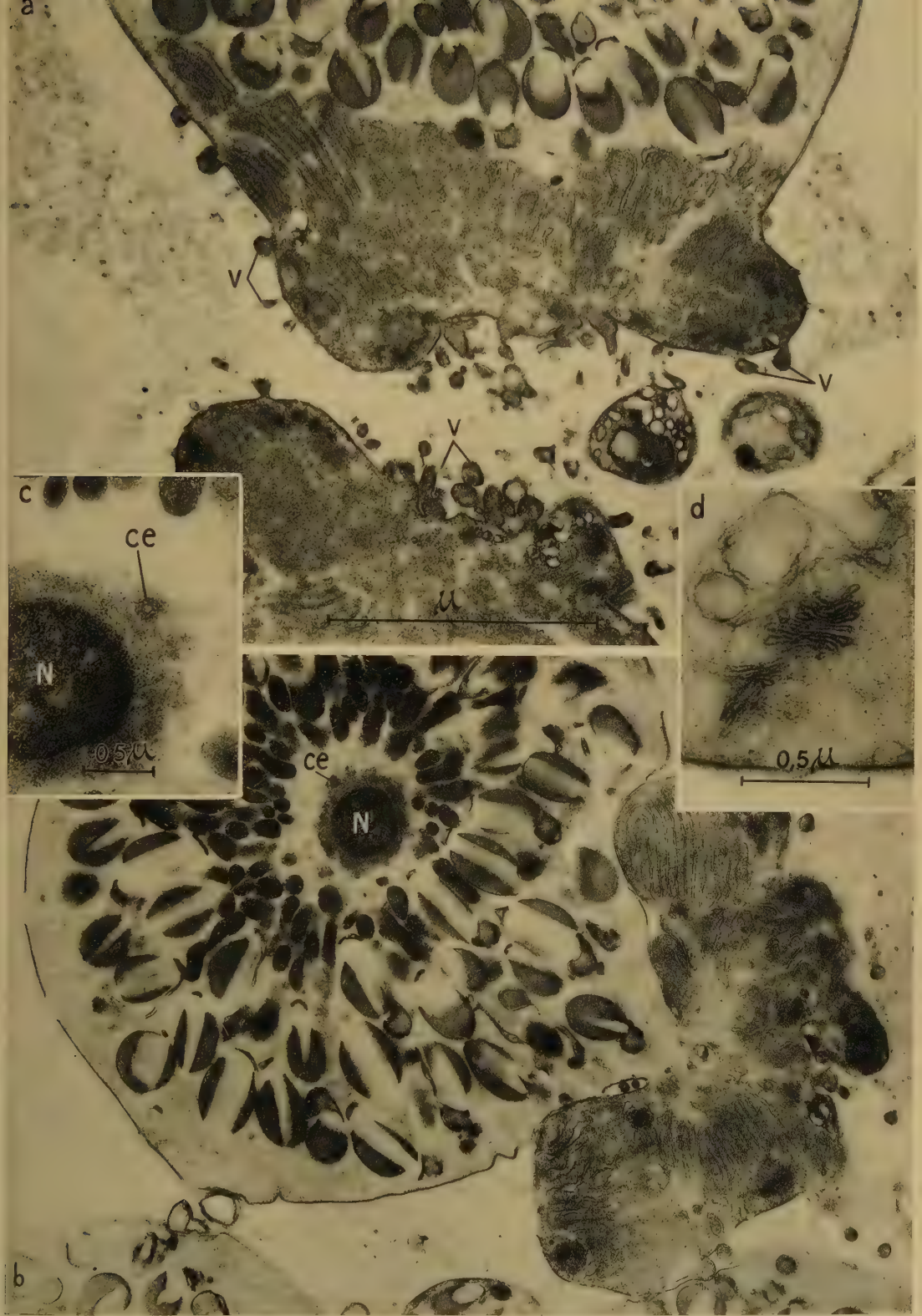


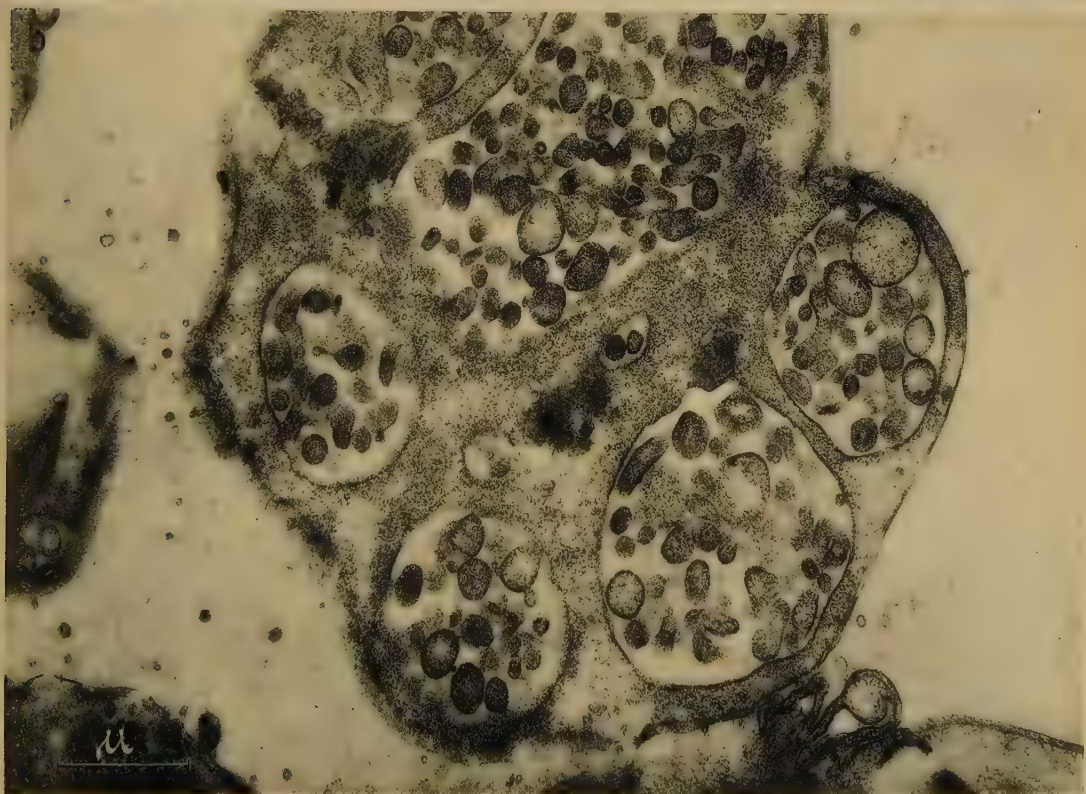
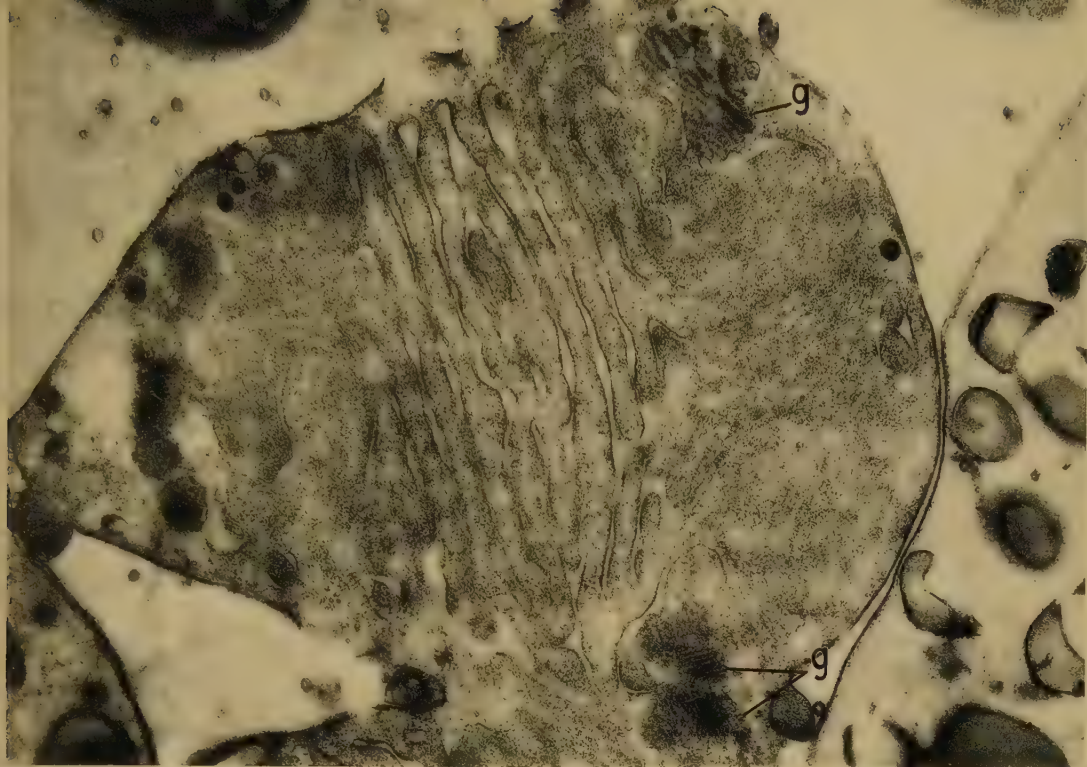


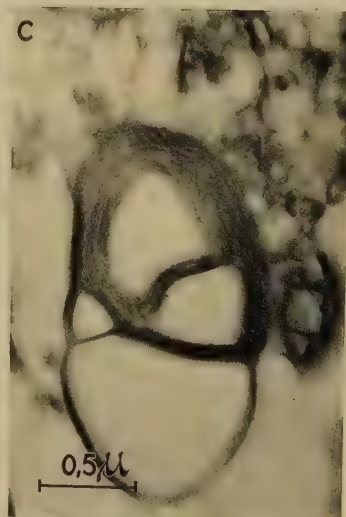
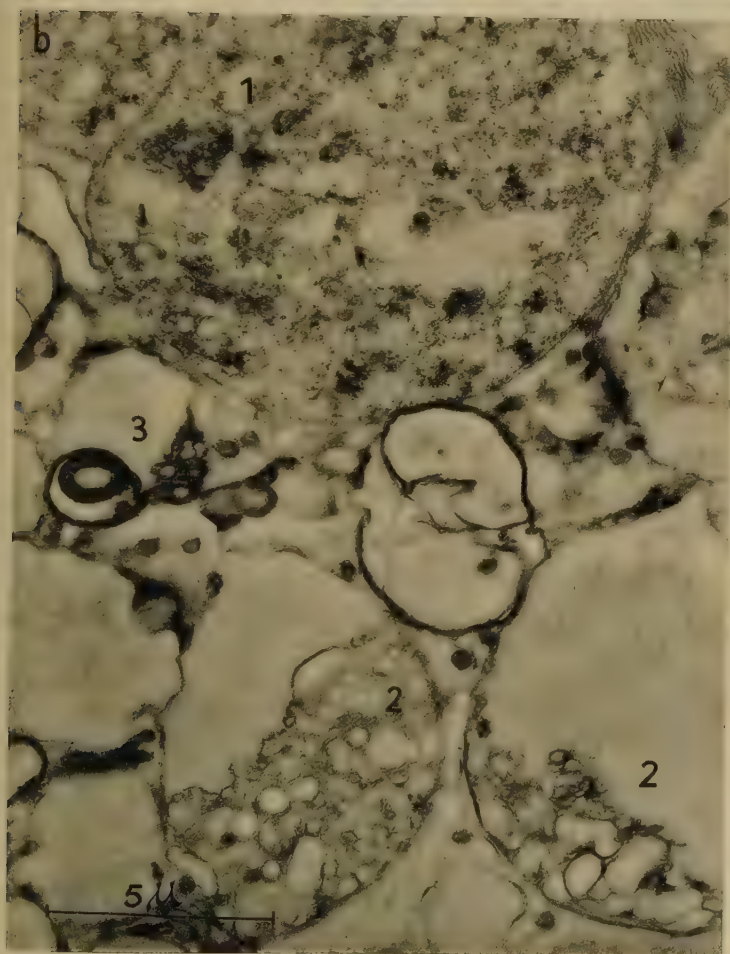
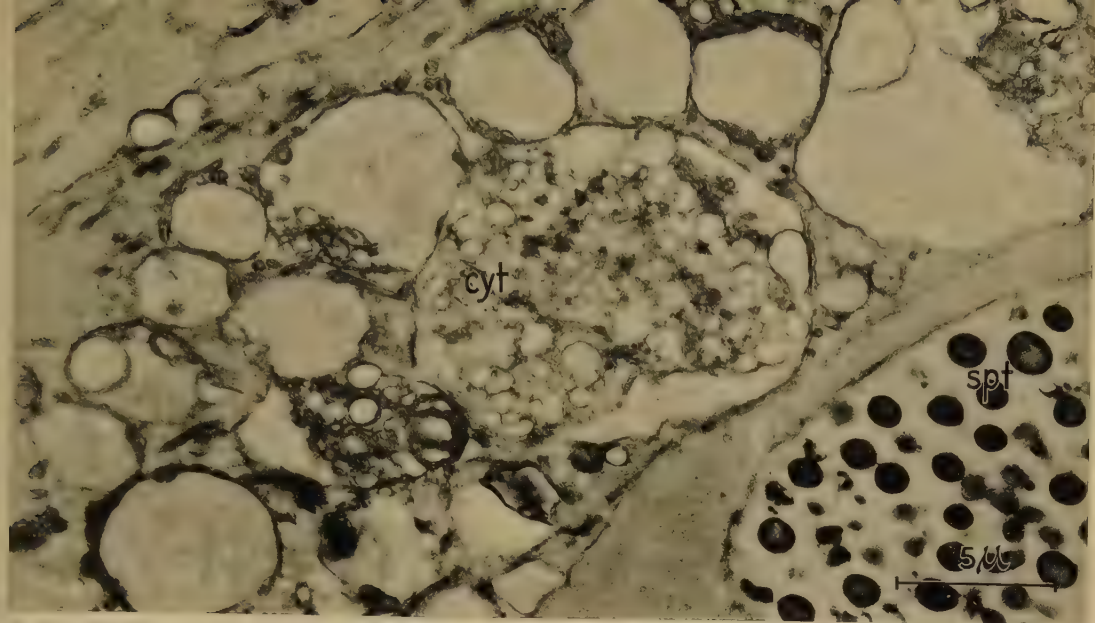


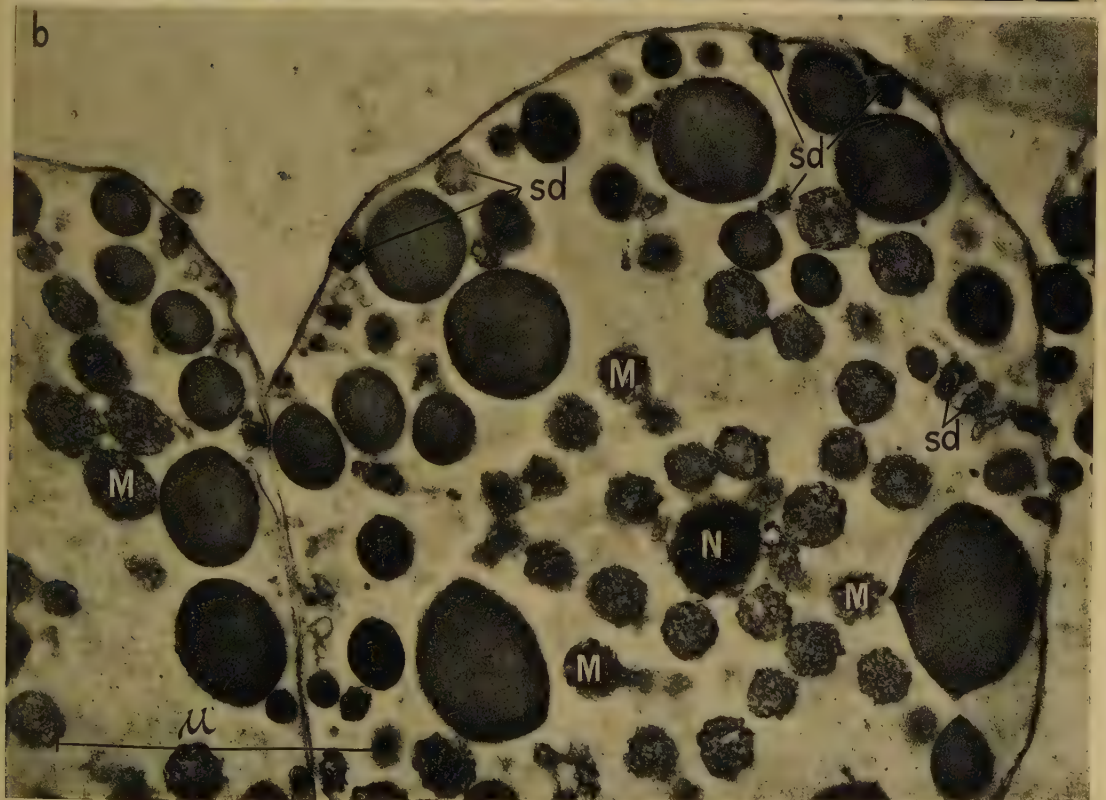
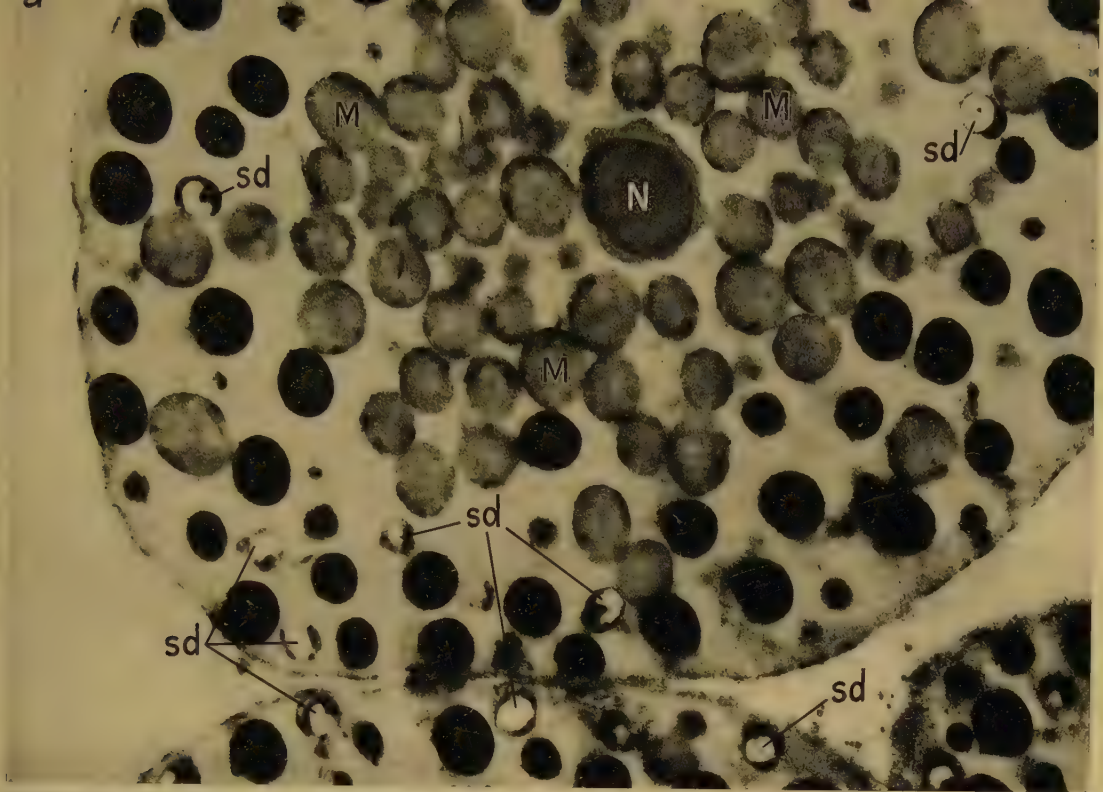


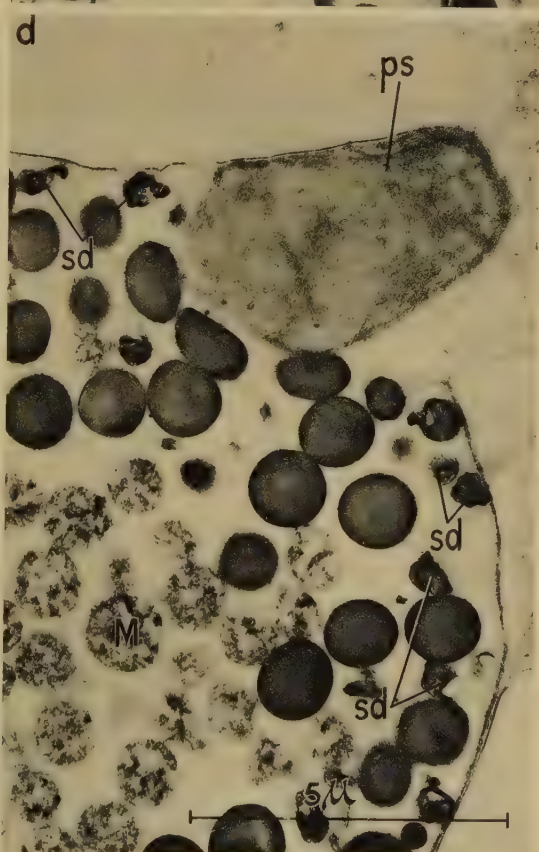
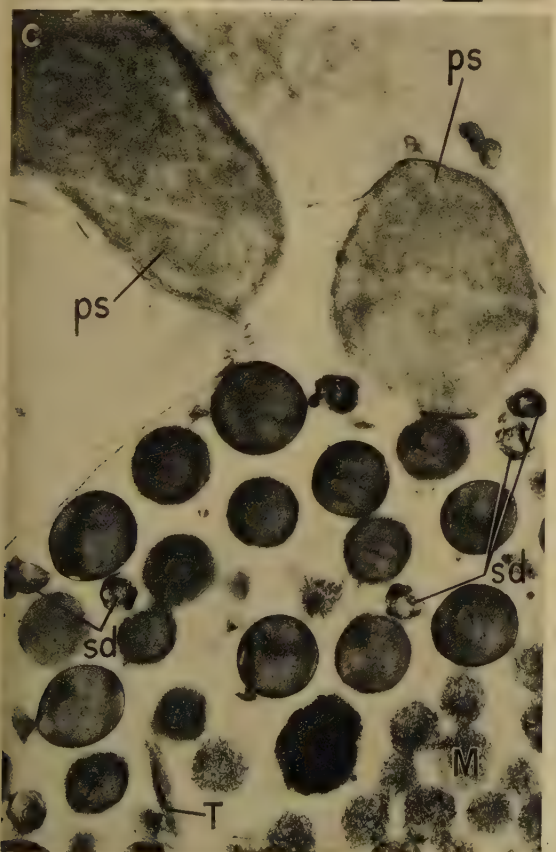
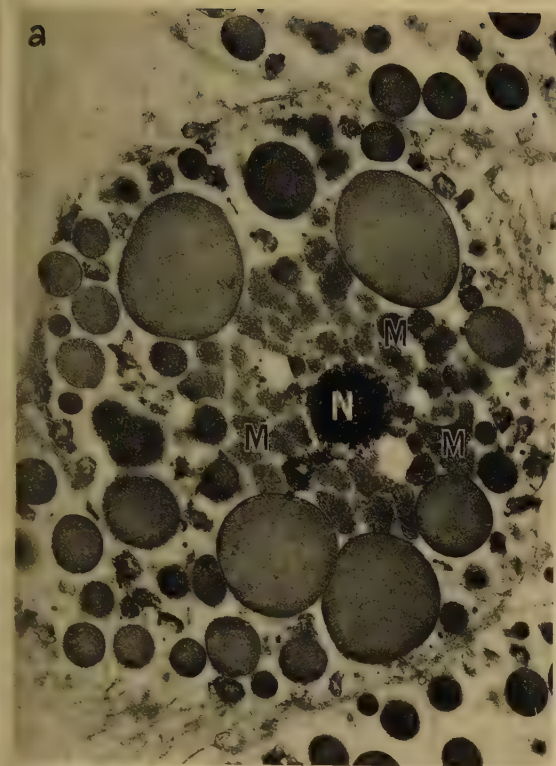


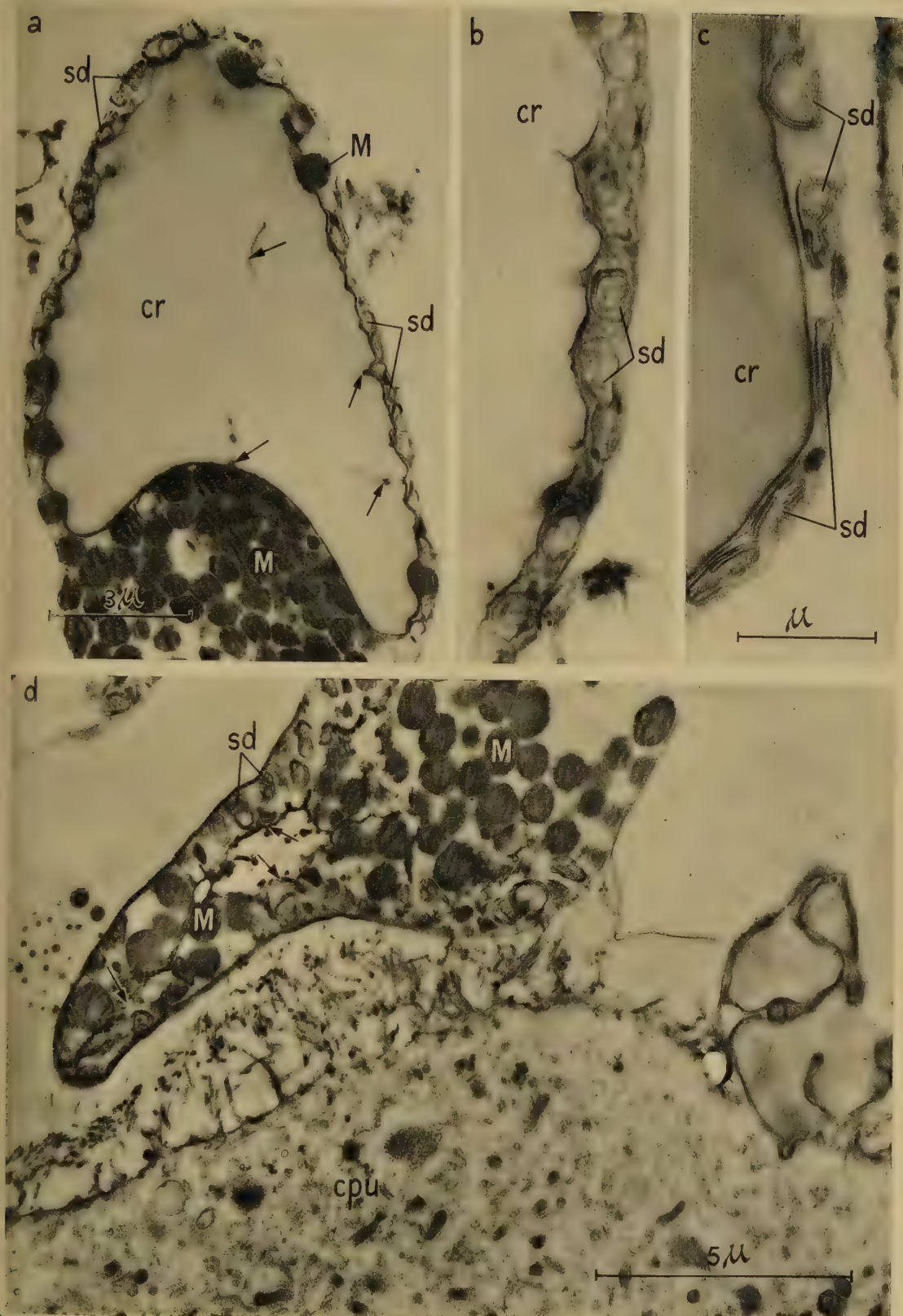


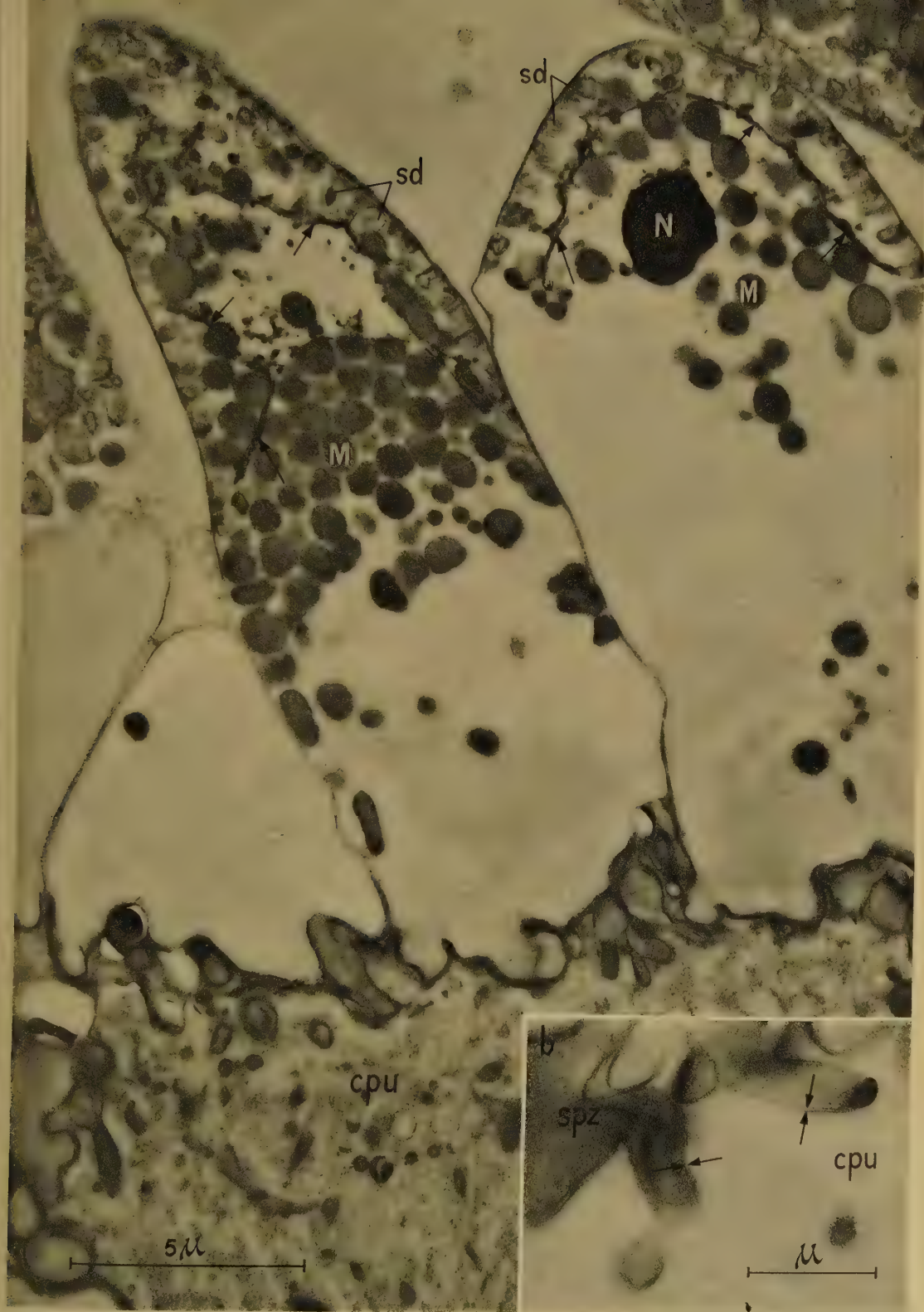


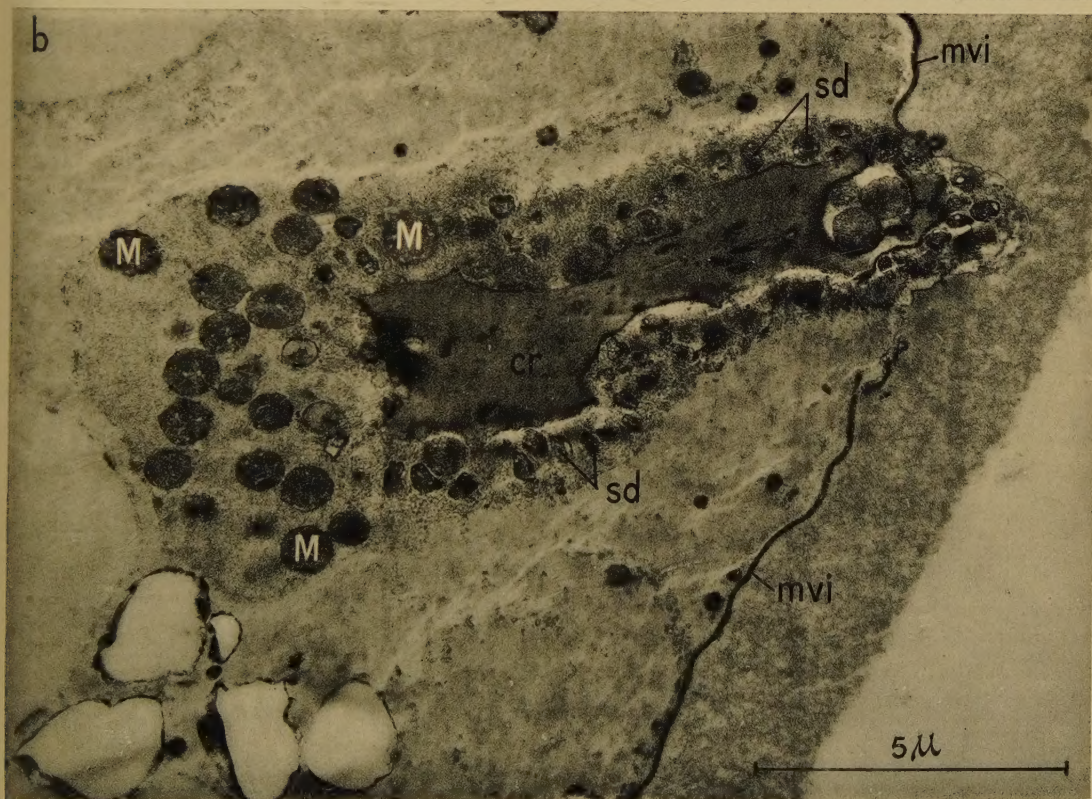


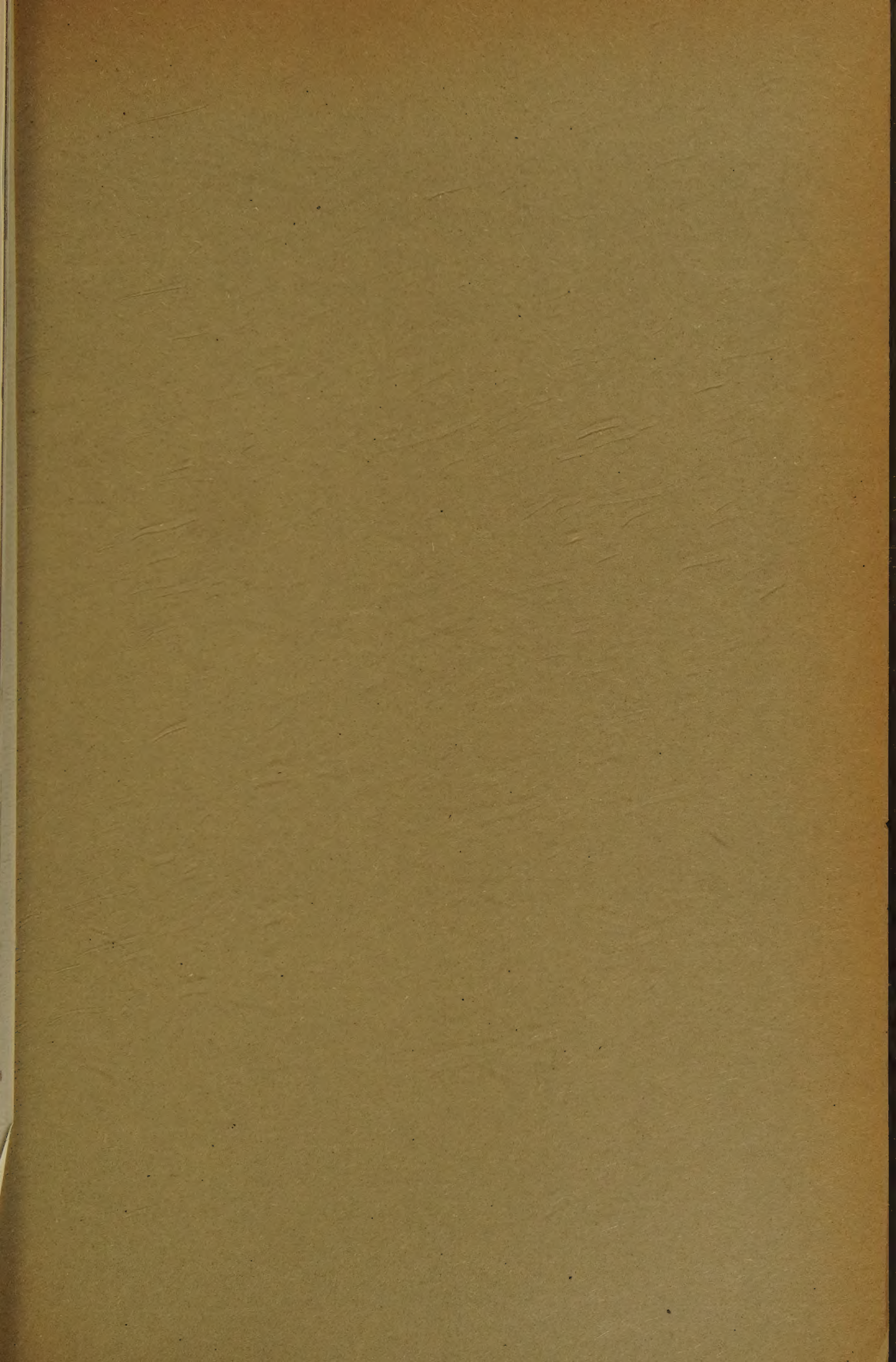












Soulisse et Cassegrain, Imp., Niort. Dépôt légal : 1^{er} trim. 1962. N° d'ordre : 543.
Masson et C^{ie}, Edit., Paris. Dépôt légal : 1^{er} trim. 1962. N° d'ordre : 3641.
(Printed in France.)